

**ETUDE PHARMACOCINETIQUE DE LA PHENYLBUTAZONE
CHEZ LE CHEVAL DE SPORT
APPLICATION DES RESULTATS AU CONTROLE
ANTI-DOPAGE ET A LA VISITE D'ACHAT**

THÈSE

présentée

à L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD de LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 16 Novembre 1977

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

TIANO Frédéric

né le 22 Septembre 1950

à PARIS



ASSOCIATION AMICALE
DES ÉTUDIANTS EN PHARMACIE DE LYON
UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD
8, Avenue Rockefeller, 8
69373 LYON Cedex 2

**ETUDE PHARMACOCINETIQUE DE LA PHENYLBUTAZONE
CHEZ LE CHEVAL DE SPORT
APPLICATION DES RESULTATS AU CONTROLE
ANTI-DOPAGE ET A LA VISITE D'ACHAT**

THÈSE

présentée

à L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD de LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 16 Novembre 1977

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

TIANO Frédéric

né le 22 Septembre 1950

à PARIS



ASSOCIATION AMICALE
DES ÉTUDIANTS EN PHARMACIE DE LYON
UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD
8, Avenue Rockefeller, 8
69373 LYON Cedex 2

ÉTUDE PHARMACOCINÉTIQUE DE LA PHÉNYLBUTAZONE
CHEZ LE CHEVAL DE SPORT
APPLICATION DES RÉSULTATS AU CONTRÔLE
ANTI-DOPAGE ET À LA VISITE D'ACHAT

THÈSE

présentée

à l'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD de LYON

(Médecine-Pharmacie)

et soutenue publiquement le 18 Novembre 1977
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire



THIAGO Frédéric

né le 22 Septembre 1950

à PARIS



ASSOCIATION AMICALE
DES ÉLÈVES DU COLLÈGE DE LYON
PRÉSIDENCE CLAUDE BERNARD
à Lyon (France)
10010 Lyon Cedex 3

PERSONNEL ENSEIGNANT

DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

- DIRECTEUR..... Monsieur le Professeur FROGET
- DIRECTEURS HONORAIRES..... Messieurs les Professeurs JUNG, TAPERNOUX, FLORIO

PROFESSEURS

- 1° - Pharmacie et Toxicologie..... M. LORGUE
- 2° - Anatomie descriptive - Extérieur - Anatomie appliquée..... M. BARONE
- 3° - Physiologie - Thérapeutique - Pharmacodynamie..... M. BOST
- 4° - Histologie - Embryologie - Anatomie pathologique..... M. LUCAM
- 5° - Hygiène et Industrie des aliments d'origine animale..... M. FLACHAT
- 6° - Parasitologie et Maladies Parasitaires..... M. EUZEBY
- 7° - Pathologie médicale des équidés et des carnivores - Législation vétérinaire.. M. FONTAINE
- 8° - Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour..... M. COTTEREAU
- 9° - Technique Chirurgicale - Pathologie Chirurgicale..... M. COULON
- 0° - Obstétrique - Pathologie de la Reproduction..... M. BERTRAND
- 1° - Pathologie générale - Microbiologie - Immunologie..... M. OUDAR
- 2° - Ethnologie - Zootechnie - Economie Rurale..... M. FROGET
- 3° - Botanique appliquée - Agronomie - Alimentation..... M. WOLTER
- 4° - Physique et Chimie biologiques et médicales..... M. MAGAT
- 5° - Maladies contagieuses - Zoonoses - Législation sanitaire..... M. JOUBERT

PROFESSEURS SANS CHAIRE

M. FERNEY (Détaché à l'Institut des Sciences et Médecine Vétérinaire de DAKAR).
MM. CHANTEGRELET, DELATOUR, DESCHANEL, JEAN-BLAIN, LAPRAS, LE NIHOUANNEN.

MAITRES DE CONFERENCES

MM. BOIVIN, GASTELLU, MOUTHON.

MAITRES-ASSISTANTS

Mme CHAUVE, MM. FARGES, FAU, FRANCK, GARNIER, GEVREY, GOUY, KECK, LABE, Mlle LAVAL,
MM. LEGEAY, PAYAN, PRAVE, Mme RACHAIL, M. RICHARD.

ASSISTANTS

MM. BASSIER, BELLI, BILLIONNET, CHERMETTE, CHEVRIER, DEGUELLE, DEVILLE, EUZEBY,
GOSSE, HARS, TIANO, VILLON.

EXAMINATEURS DE LA THESE

Président	: M. le Professeur	de la Faculté de Médecine.
Premier assesseur	: M. le Professeur	de l'Ecole Nationale Vétérinaire.
Deuxième assesseur	: M. le Professeur	de l'Ecole Nationale Vétérinaire.

L'Université Claude Bernard (Médecine-Pharmacie) de LYON et l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON, déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation ni improbation.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554225_0020

A ANDREE

En témoignage de mon Amour.

A MES PARENTS

Sans eux, ce travail n'aurait jamais existé.

Qu'ils trouvent ici le témoignage de mon
affection et de ma reconnaissance.

A MA GRAND-MERE

Avec qui nous avons passé de nombreux instants
de bonheur.

A BETTY et JEAN-PIERRE, RENE et HUGUETTE

Toujours présents, prêts à nous épauler.

A TOUTE MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

AU DOCTEUR VETERINAIRE Gérard FAYE

AU DOCTEUR VETERINAIRE Gérard BERLIER

AU DOCTEUR VETERINAIRE André JEANNIN

Nous avons toujours trouvé auprès d'eux un
accueil et une amitié qui nous ont permis
de mieux connaître notre métier et de
l'apprécier.

Pour leurs conseils précieux et avisés,
qu'ils trouvent ici l'expression de notre
amicale reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BERTOYE

Professeur à la Faculté de Médecine de LYON

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter
la présidence de notre jury de thèse.

Nous lui exprimons notre vive reconnaissance
et nos hommages respectueux.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LORGUE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON

Qui a su prendre de son temps précieux pour
s'intéresser à nos travaux et nous conseiller.

Au cours de notre année d'assistanat, nous
avons toujours trouvé auprès de lui un accueil
amical et très chaleureux.

Nous lui exprimons notre respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR DELATOUR

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON

Il nous a été donné de profiter de sa haute
compétence et de sa gentillesse constante pendant
notre séjour au Laboratoire.

Pour avoir accepté de faire partie de notre jury
de thèse, qu'il trouve ici l'expression de notre
profonde gratitude.

A MONSIEUR Daniel COURTOT

Qui nous a inspiré le sujet de notre travail.

Sa compétence et sa constante disponibilité nous ont permis de mener à bien la partie expérimentale de cet exposé.

A MADAME BLANCHARD

A MADAME DUMILLIER

Qui malgré leur emploi du temps très chargé, ont effectué l'analyse de nos prélèvements.

Leur participation a été importante pour la rédaction de notre travail.

Qu'elles soient ici remerciées.

A TOUT LE LABORATOIRE DE PHARMACIE-TOXICOLOGIE

A chaque instant, nous y avons trouvé une amitié qui nous a beaucoup aidé.

Qu'il soit ici vivement remercié.

I N T R O D U C T I O N

La phénylbutazone, antiinflammatoire non stéroïdique du groupe des pyrazolones, fut synthétisée à la fin de la deuxième Guerre Mondiale par le groupe GEIGY, en Suisse, et introduite dans l'arsenal thérapeutique humain en 1949 pour le traitement de l'arthrite et des rhumatismes. Du fait de ses capacités à réduire l'inflammation et la douleur associée, elle est le médicament antiinflammatoire et antalgique le plus utilisé chez le cheval. Dans cette espèce, les objectifs sont doubles : objectif thérapeutique et objectif de fraude. Ce dernier point est important à prendre en considération. Les chevaux de course ou de sport sont exposés à subir des traumatismes divers dont les conséquences classiques sont l'apparition de boiteries variées. La phénylbutazone, en inhibant les phénomènes inflammatoires et douloureux, tout en ne modifiant pas les capacités innées du cheval, trouve donc ainsi toute son utilisation. De ce fait, elle est considérée comme un dopant dans cette espèce, car son emploi incontrôlé et répété porte atteinte à la santé de l'animal. Hormis cet aspect particulier du dopage, cette substance est également utilisée par des vendeurs de chevaux peu scrupuleux pour tromper un éventuel acheteur en leur permettant de présenter un animal soi-disant exempt de boiterie.

Ces deux aspects de l'emploi frauduleux de la phénylbutazone nous ont conduit à étudier cette substance chez le cheval, en orientant notre travail sur l'aspect pharmacocinétique. Dans une première partie nous nous efforcerons de rappeler ses principales propriétés physicochimiques, pharmacologiques et toxiques. Dans une seconde, nous étudierons expérimentalement son devenir chez le cheval.

PREMIERE PARTIE

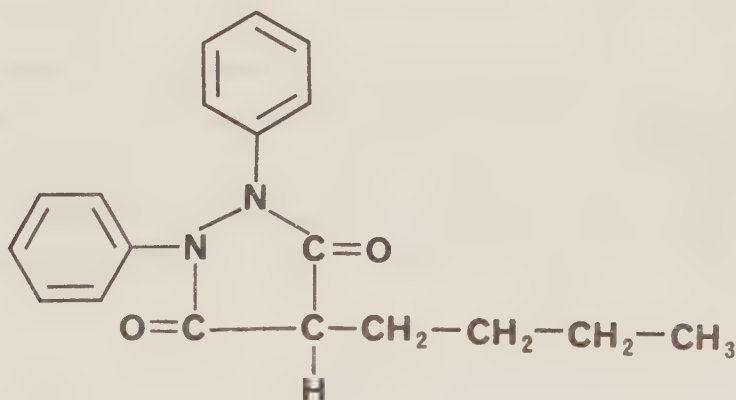
LA PHENYL BUTAZONE : ETUDE GENERALE

LA PHÉNYLBUTAZONE : ETUDE GÉNÉRALE

Après avoir rappelé les principales propriétés physiques de la phénylbutazone, nous étudierons, dans ce chapitre, ses propriétés pharmacologiques. Le mode d'action ayant été explicité, nous aborderons la toxicité et les effets secondaires de cette substance avant d'envisager son usage thérapeutique. Son utilisation en tant que dopant chez le cheval constituera le dernier paragraphe de cette première partie.

I - PROPRIÉTÉS PHYSIQUES (62)

La phénylbutazone, ou 4 butyl, 1-2 diphényl, 3-5 pyrazolone-dione, est un dérivé de la pyrazolone structuralement voisin de l'antipyrine et de l'aminopyrine.



- Son poids moléculaire est de 308,87.
- Elle se présente sous forme de cristaux blancs dont le point de fusion est de 105°C.
- La solubilité est fonction du pH : dans l'eau distillée à 22°C elle est de 0,7 mg/ml (2,2 mg/ml selon BRODIE (15), 1,5 mg/ml selon DI SANTO (31)).
- Son pKa est de 4,5 : c'est donc un acide organique faible.
- Son absorption maximale dans l'ultraviolet se situe à 239,5 nm.

Le sel de sodium de la phénylbutazone se présente également sous forme de cristaux, faiblement solubles dans l'eau. Le pH de la solution aqueuse se situe autour de 8,2.

II - PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES

II-1. Administration

La phénylbutazone s'administre par toutes les voies usuelles. Cependant trois d'entre elles sont le plus couramment utilisées en médecine équine : orale, intramusculaire et transcutanée.

- Voie orale : sous forme de bolus.
- Voie intramusculaire : sous forme d'une solution injectable.
- Voie transcutanée : sous forme d'une crème dermique associée, dans la majorité des présentations, à un anesthésique local.

II-2. Absorption

II-2-1. Voie orale

La phénylbutazone est rapidement et totalement absorbée à partir du tractus gastrointestinal. Le pic sérique maximal est obtenu au bout de 2 heures (DI SANTO (31)).

Son passage à travers la paroi gastrointestinale est limité à la forme non dissociée. Le taux d'absorption dépend non seulement de la solubilité dans les lipides mais aussi de son degré d'ionisation. C'est à ce niveau qu'intervient le pKa. Ce qui explique que la phénylbutazone, médicament acide, est absorbée au niveau de l'estomac. En effet, en milieu acide, elle se trouve sous forme non ionisée.

Des études ont été réalisées chez l'Homme sur la comparaison entre les solubilités des analogues de la phénylbutazone à pH = 7 et leur absorption après administration orale. Les résultats sont rapportés sur le tableau I.

II-2-2. Voie intramusculaire

C'est de loin la voie la plus utilisée chez le cheval car la plus pratique. L'administration est effectuée en injection intramusculaire profonde afin d'éviter toute réaction au produit, la phénylbutazone étant assez irritante.

Du fait de sa faible solubilité au pH physiologique, il y a probablement précipitation puis fixation sur les protéines musculaires et sa diffusion à partir du point d'injection est lente. Ainsi on ne retrouve un pic sérique maximal qu'au bout de 6 à 10 heures chez l'Homme (HEMMING (43)).

II-2-3. Voie transcutanée

L'application de crèmes dermiques est moins souvent employée que les deux autres modes d'administration déjà cités. Par cette voie, son action est en effet plus longue à obtenir d'une part, et d'autre part, chez le cheval, on traite essentiellement des troubles aigus, nécessitant une action thérapeutique immédiate. On l'utilise cependant sur des affections peu graves et sur des animaux ne nécessitant pas une guérison rapide.

II-3. Transport dans le sang

Une fois absorbée, la phénylbutazone passe dans le sang où elle est transportée par les protéines plasmatiques, auxquelles elle se lie très facilement et très rapidement (principalement les albumines).

Le transport a été bien étudié chez l'Homme et chez les animaux ; on connaît à l'heure actuelle le pourcentage de fixation aux protéines.

- Chez l'Homme, à dose thérapeutique, la phénylbutazone est liée à 98 % aux protéines plasmatiques. A dose plus élevée, les récepteurs protéiques sont saturés et le taux de liaison n'est plus que de 88 %. Ceci est dû à un taux de métabolisation plus élevé dû, lui-même, à une concentration plus grande de produit libre (DI SANTO (31)).

- Chez le cheval, la fixation s'effectue à 96 % (GANDAL (38)).

CHIGNELL (25) a étudié également le transport de la phénylbutazone par les albumines plasmatiques de l'Homme, du rat, du lapin et du chien. Il met en évidence des différences suivant l'espèce à la fois dans le nombre de sites de transport par la molécule d'albumine et dans leur affinité pour cette substance. Les résultats sont donnés dans le tableau II.

L'affinité de l'albumine plasmatique pour la phénylbutazone, plus élevée chez l'Homme, explique que sa demi-vie soit plus grande dans cette espèce (CHIGNELL (25)) :

- Homme : 72 heures
- Rat : 6 heures
- Chien : 6 heures
- Lapin : 3 heures

Chez le cheval, elle est portée sur l'albumine plasmatique au niveau de 3 sites récepteurs.

Il faut noter également que les taux plasmatiques ne sont pas proportionnels aux doses administrées. C'est ainsi que les taux atteints avec des doses de 1600 mg/jour chez l'Homme sont seulement quelques pour cent supérieurs à ceux atteints avec des doses de 800 mg/jour (BURNS (18)).

De nombreux médicaments entrent en compétition pour le même site de transport sur l'albumine plasmatique et peuvent alors se déplacer les uns les autres. Il en est ainsi pour la phénylbutazone avec les sulfamides, le coumafène, la tolbutamide, l'indométhacine et les glucocorticoïdes (DI SANTO (31)). CHIGNELL (25) montre qu'elle est déplacée des sites de transport par l'indométhacine, la sulfaméthoxypyridazine et l'acide chlorophénoxy-isobutyrique. Par contre, JUN (53), utilisant une technique d'examen par fluorescence, démontre qu'elle déplace le coumafène (sel sodique) et que sa constante d'association, au niveau des sites récepteurs, est 2,5 fois plus grande que celle du coumafène. Ceci explique que l'action anticoagulante de ce dernier soit exacerbée si on l'associe au traitement.

Selon RUDMAN (73), travaillant sur le sérum de l'Homme, des bovins et du lapin, les acides gras non estérifiés agissent sur le transport des médicaments. En particulier, l'acide oléique et l'acide palmitique diminuent le transport de la phénylbutazone par l'albumine sérique.

Selon JUN (53), la nature de la liaison entre la phénylbutazone et les protéines plasmatiques serait hydrophobe.

La phénylbutazone traverse également la barrière placentaire. BOULOS (12) perfuse des chèvres gestantes et mesure la quantité de phénylbutazone dans le plasma foetal :

- le taux plasmatique du foetus est égal à 60 % de celui de la mère, un plateau étant atteint 60 mn après le début de la perfusion,
- elle est encore détectable chez le foetus 48 heures après l'arrêt de la perfusion,
- il y a accélération des battements cardiaques du foetus au cours et 18 h 30 après la perfusion,
- les agneaux présentent des signes d'insuffisance rénale dont la gravité nécessite parfois leur abattage une semaine après la naissance.

II-4. Transformations chimiques dans l'organisme

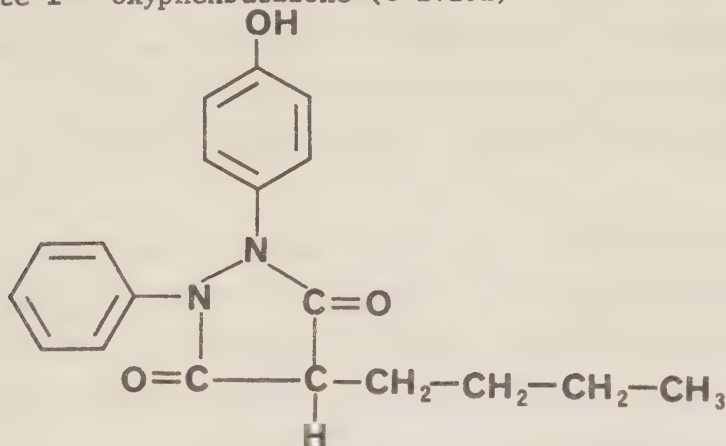
II-4-1. Généralités

La phénylbutazone est presque entièrement métabolisée dans le foie. Chez l'Homme, ce taux de métabolisation est relativement lent, aboutissant à une demi-vie de 72 heures (DI SANTO (31)). Le taux de biotransformation serait d'environ 20 % par jour, mais il varie cependant considérablement avec les individus (BURNS (18)). En moyenne, on considère qu'avec des doses de 600 à 800 mg/jour l'organisme humain métabolise la phénylbutazone à raison de 15 à 25 % par jour, entraînant sa disparition dans le sang en 7 à 10 jours (HEMMING (43)). D'après les résultats de ces derniers auteurs, le rat et le chien métabolisent la phénylbutazone plus rapidement. Les travaux de BURNS (18) corroborent ces résultats. C'est ainsi que la demi-vie biologique n'est que de 6 heures chez le chien et le rat, 5 heures chez le cobaye et 3 heures chez le lapin.

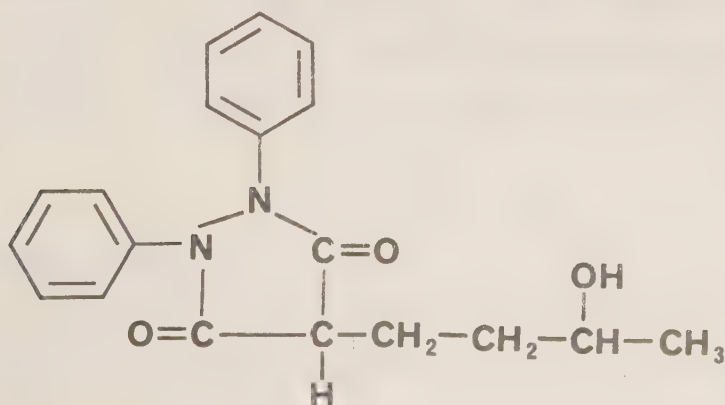
RITSCHER (71), après une étude bibliographique, donne pour la phénylbutazone les résultats rapportés dans le tableau III.

D'un point de vue biochimique, le métabolisme de la phénylbutazone fait intervenir un phénomène d'hydroxylation au niveau des microsomes hépatiques. Elle est transformée essentiellement en trois principaux métabolites :

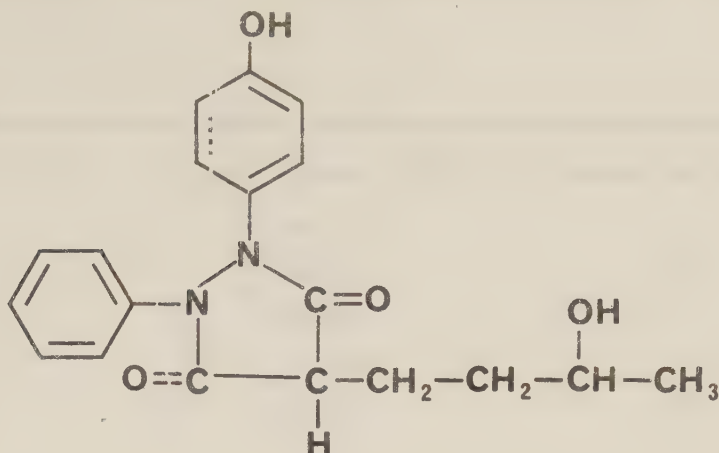
- Métabolite I = oxyphénbutazone (G 27202)



- Métabolite II = γ -hydroxyphénylbutazone (G 28231)



- Métabolite III = para- γ -dihydroxyphénylbutazone (G 29665)



Les variations dans la vitesse de métabolisation par les microsomes hépatiques ont été étudiées par différents auteurs chez l'Homme et les animaux. VESELL (86) a fait ses études chez l'Homme, sur une série de jumeaux, afin de préciser si ces variations avaient une origine environnementale ou génétique. Il démontre ainsi que les facteurs environnementaux interviennent peu. Par contre les facteurs génétiques sont essentiels et agissent au niveau de l'enzyme microsomal hépatique qui hydroxyle la phénylbutazone. DAYTON (30), travaillant sur des chiens, étudie plusieurs médicaments dont la phénylbutazone. Il met en évidence que la vitesse de disparition de ce composé dans le plasma est fonction de la dose administrée. Pour la phénylbutazone, plus les doses sont faibles plus la métabolisation est rapide. Des modifications du transport par les protéines plasmatiques ne permettent pas seules d'expliquer cette particularité. L'effet de la dose sur la vitesse de la baisse du taux plasmatique est interprété par cet auteur, comme un cas spécial d'inhibition, la "self-inhibition" du métabolisme d'un médicament.

Par contre, contrairement à ce que l'on observe chez l'Homme et certaines espèces animales, BURNS (21) démontre que la phénylbutazone, après des administrations répétées, augmente son propre métabolisme chez les chiens (recevant 100 mg/kg/j du composé pendant 20 jours) (Tableau IV).

De même, certains médicaments peuvent augmenter la vitesse de métabolisation de la phénylbutazone. VON BAHR (87), travaillant avec le phénobarbital, constate que ce composé augmente la capacité hydroxylative des microsomes hépatiques. L'excrétion de la phénylbutazone est multipliée par 3 après traitement au phénobarbital.

II-4-2. Métabolites

La phénylbutazone est éliminée de l'organisme par l'urine : 3 % de la dose administrée sous forme d'oxyphenbutazone, 4 % sous forme d'hydroxyphényl-

Homme	72 heures (31 à 175 heures suivant les individus)
Chien	6 heures
Singe	8 heures
Lapin	3 heures
Rat	6 heures
Cobaye	5 heures
Cheval	6 heures
Animaux de laboratoire	3 à 6 heures

TABLEAU III - Demi-vies de la phénylbutazone chez différentes espèces.
(d'après RITSCHHELL (71)).

Jour	Concentration plasmatique (mg/l)		
	Chien 1	Chien 2	Chien 3
1	100	146	118
2	-	-	-
3	-	-	-
4	71	69	55
5 - 7	-	-	-
8	28	15	14
9 - 19	-	-	-
20	30	19	18

TABLEAU IV - Concentration plasmatique après administration journalière de
phénylbutazone chez le chien.
(d'après BURNS (21)).

butazone (DI SANTO (31)), des traces sous forme de métabolite III.

a) Oxyphenbutazone = Tandéril N.D.

C'est le métabolite principal obtenu par hydroxylation d'un des deux noyaux benzéniques en position para.

On le retrouve dans la bile avec la phénylbutazone inchangée. Dans l'urine du rat on n'en dose que 2 à 4 % seulement (BAKKE (5)) au bout de 24 heures après l'administration de 15 mg/kg de phénylbutazone marquée par du carbone ^{14}C . La figure 1 donne l'évolution de la phénylbutazone dans le plasma en fonction du temps.

Il est métabolisé chez l'Homme aussi lentement que la phénylbutazone. Sa demi-vie est 72 heures après une injection intraveineuse (HART (40), BURNS (20), YU (95), GANDAL (38)). VAUGHN (85) trouve une demi-vie chez l'Homme variant de 42 à 72 heures.

GANDAL (38) étudie les demi-vies de l'oxyphenbutazone chez différentes espèces animales et trouve les résultats mentionnés dans le tableau V.

BURNS (21) compare les demi-vies de la phénylbutazone et de l'oxyphenbutazone dans différentes espèces (Tableau VI). Il n'existe, comme on le voit, aucune différence entre les deux composés chez l'Homme et le singe. Par contre, chez le chien, l'oxyphenbutazone est métabolisé beaucoup plus rapidement. Ce point peut être intéressant dans le traitement de certaines inflammations dans cette espèce. Du fait de sa durée de vie plus courte et donc d'une toxicité moins grande, il pourrait être éventuellement utilisé dans des traitements de longue durée.

Sa solubilité est fonction du pH. DOMENJOZ (32) trouve les données reproduites dans le tableau VII.

L'oxyphenbutazone est très bien absorbé per os, à un taux semblable à celui de la phénylbutazone.

Ses taux plasmatiques pendant 4 à 24 heures sont les mêmes per os ou après administration par voie intraveineuse.

YU (95) calcule les taux plasmatiques de phénylbutazone, métabolite I et métabolite II après une dose unique de 600 mg par voie intraveineuse de chaque composé à un même individu. La figure 2 traduit les résultats obtenus.

Au niveau du plasma, 98 % du métabolite I est transporté par les protéines plasmatiques chez l'Homme (YU (95)). Chez le cheval, ce taux est de 87 % (GANDAL (38)).

JAHNCHEN (50), en considérant que les médicaments métabolisés par

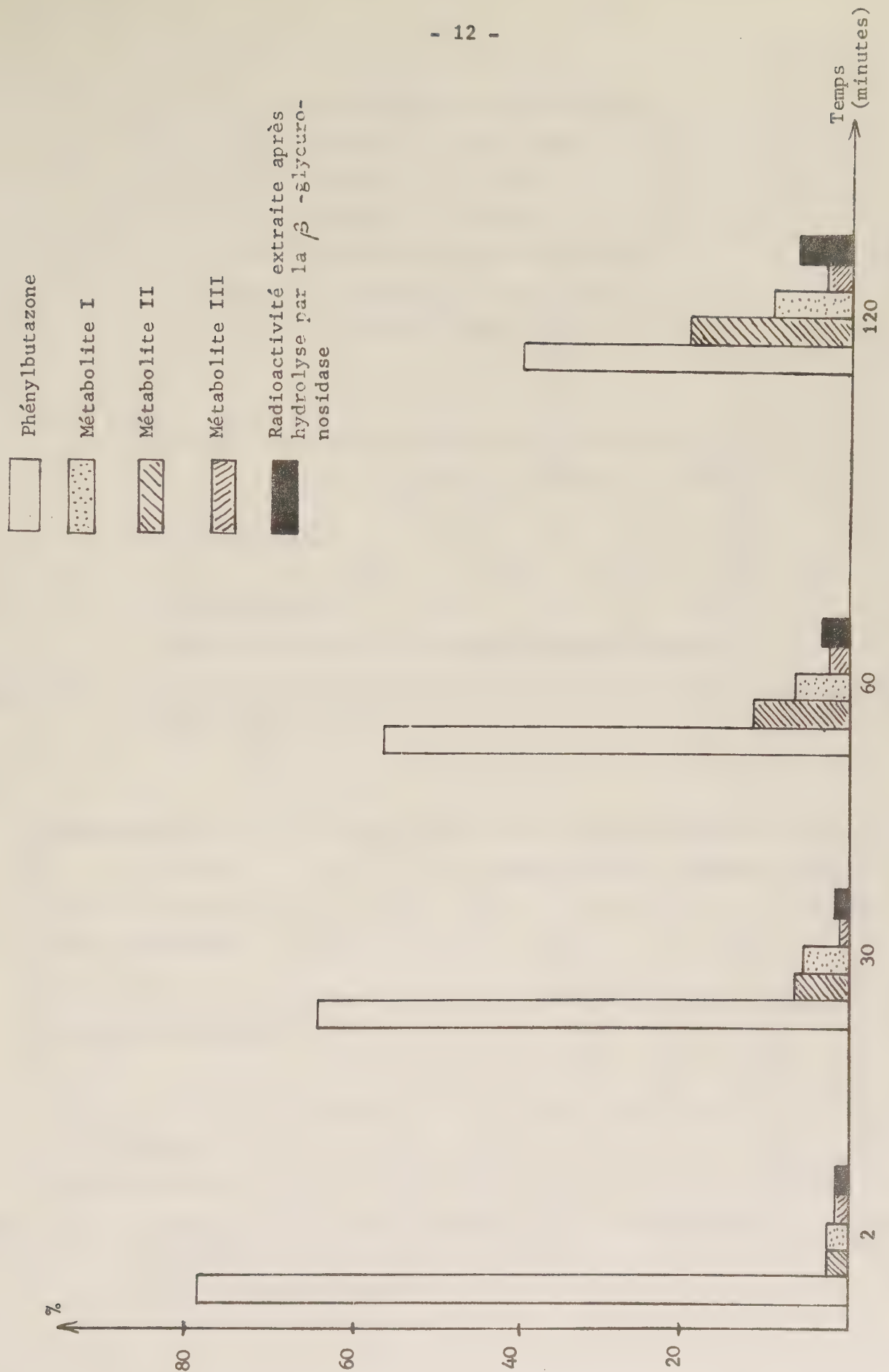


FIGURE 1 - Evolution de la phénylbutazone et de ses métabolites dans le plasma en fonction du temps (phénylbutazone marquée au ^{14}C).
(d'après BAKKE (5)).

Cheval	5 à 7 heures
Bovins	1 h 20
Chien	$\frac{1}{2}$ heure

TABLEAU V - Demi-vie de l'oxyphenbutazone.
(d'après GANDAL (38)).

	Homme	Rhésus	Chien
Phénylbutazone	72 h	8 h	6 h
Oxyphenbutazone	72 h	8 h	$\frac{1}{2}$ h

TABLEAU VI - Comparaison des demi-vies de la phénylbutazone et de l'oxyphenbutazone.
(d'après BURNS (21)).

Solvant	pH	Phénylbutazone	Oxyphenbutazone
Tampon phosphate 0,066 M	7,0	188	195
	6,0	34,5	66
Tampon acétoacétate 0,10 M	4,7	3,6	13,2
	4,1	2,3	9,6
	3,5	1,9	8,1
Eau distillée		1,5	13,9

TABLEAU VII - Solubilités de la phénylbutazone et de l'oxyphenbutazone en mg/100 ml
de solution tampon en fonction du pH.
(d'après DOMENJOZ (32)).

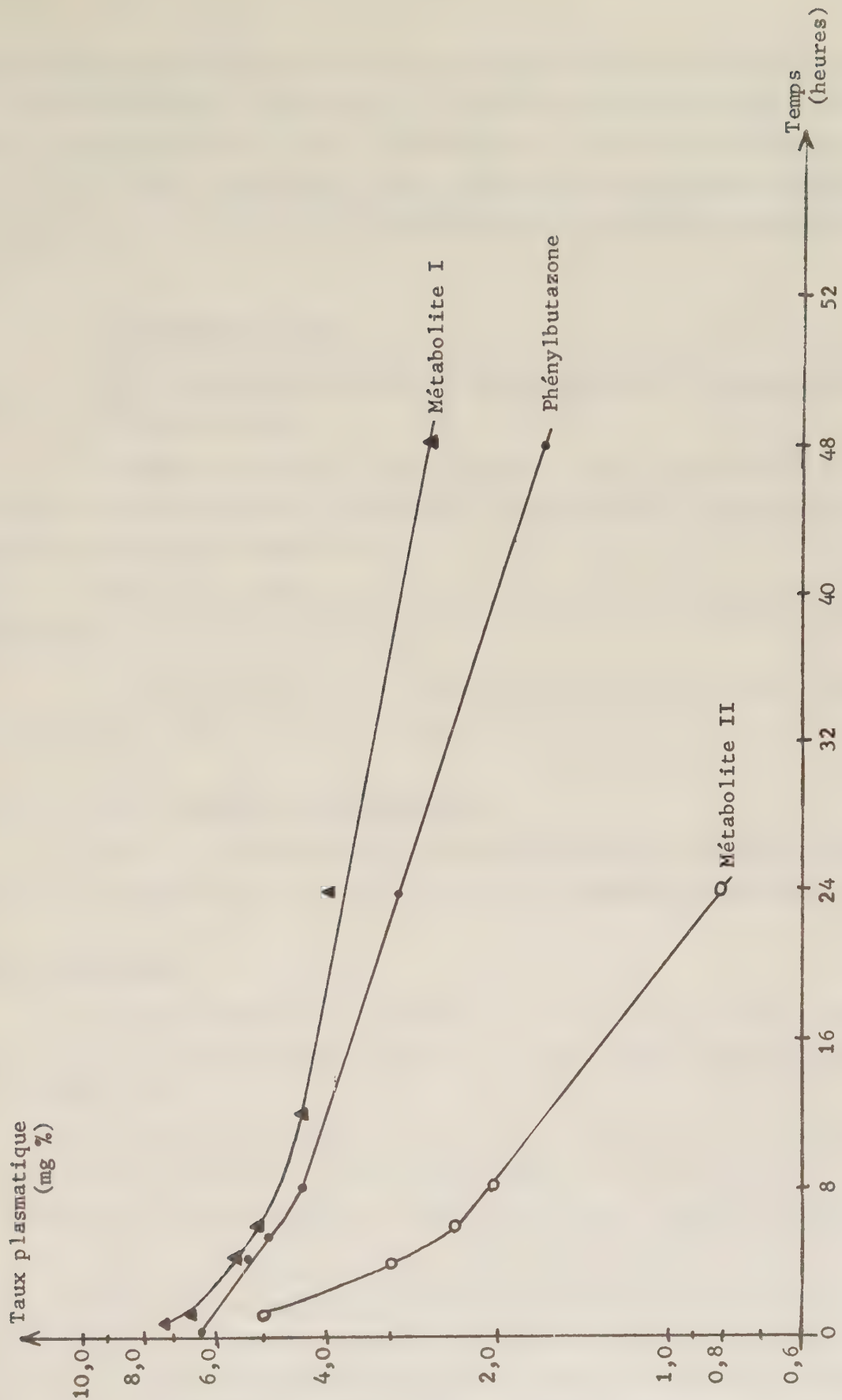


FIGURE 2 - Evolution des taux plasmatiques de la phénylbutazone et des métabolites I et II en fonction du temps.
(d'après YÜ (95)).

hydroxylation chez l'Homme et les animaux peuvent inhiber le métabolisme oxydatif d'autres médicaments (par exemple, la phénylbutazone par rapport à la tolbutamide), montre que chez le rat l'oxyphenbutazone a un effet inhibiteur semblable sur la phénylbutazone, augmentant ainsi sa demi-vie. Ce phénomène est probablement dû à un déplacement partiel de la phénylbutazone des protéines plasmatiques par son métabolite.

b) Hydroxyphénylbutazone

C'est un métabolite formé par hydroxylation de la chaîne butyle latérale de la phénylbutazone.

Ce composé n'est pas du tout absorbé s'il est administré per os. La seule voie d'administration possible est donc parentérale, essentiellement intraveineuse (YU (95), BURNS (20)).

L'hydroxyphénylbutazone est transporté dans le sang par des protéines plasmatiques au taux de 93 % (YU (95)).

Son métabolisme est très rapide puisque sa demi-vie chez l'Homme varie de 8 heures (BURNS (20)) à 10 heures (YU (95)).

c) Para- δ - dihydroxyphénylbutazone

C'est le troisième métabolite quantitativement retrouvé. Aucune étude, à notre connaissance, n'a été faite sur ce composé, actuellement.

II-5. Elimination

La phénylbutazone est éliminée par le rein. Son excrétion urinaire se fait 3 % sous forme d'oxyphenbutazone et 4 % sous forme d'hydroxyphénylbutazone (DI SANTO (31)).

Des traces du composé et de ses métabolites peuvent être détectées dans l'urine jusqu'à 96 heures après administration d'une dose unique, en utilisant un dosage par chromatographie en phase gazeuse avec capture d'électrons (70).

Notons, à ce propos, un cas intéressant d'interaction entre deux médicaments. ROBERTS (72) et BRIAN (13) montrent que le furosémide, substance diurétique, diminue (de 18 fois) le taux urinaire de la phénylbutazone, sans avoir d'effet sur son taux plasmatique ou sa demi-vie. Ceci est important à connaître pour les tests anti-dopage de routine chez les chevaux de sport, l'entraîneur pouvant administrer simultanément les deux produits, afin de masquer sa manœuvre frauduleuse.

III - MODE D'ACTION

III-1. Phénylbutazone

Selon les travaux les plus récents, le mécanisme d'action de la phénylbutazone semble être une inhibition des prostaglandines et de leur synthèse au niveau du tissu enflammé (PAULUS (65), BRUNE (17), TOMLINSON (84)).

Les prostaglandines sont des lipides pharmacologiquement importants, largement distribués dans les tissus et les liquides biologiques des mammifères. Elles ont été décrites pour la première fois et dénommées par VON EULER en 1936 (88). Elles agissent localement dans les tissus où elles sont produites et peuvent être considérées comme des "hormones locales" (COLLIER (26)). Une injection intradermique de prostaglandines E1 et E2, à des doses de l'ordre du nanogramme, provoque une élévation locale de la perméabilité vasculaire chez le cobaye (HORTON (47)) et chez la souris (GRUNKHORN (27), KALEY (54)). Le pouvoir inflammatoire des prostaglandines est comparable à celui de l'histamine, de la bradykinine et de la 5-hydroxytryptamine.

Les médicaments antiinflammatoires non stéroïdiques tels que la phénylbutazone agissent en inhibant la production des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique (essentiellement la prostaglandine E2). Cet effet inhibiteur de leur production chez des sujets prenant de la phénylbutazone à dose thérapeutique a été démontré par TOMLINSON (84), étudiant la synthèse de la prostaglandine E2 par les microsomes de la vésicule séminale des bovins. Le blocage de cette synthèse se fait au niveau de l'acide arachidonique par compétition entre ce composé et la phénylbutazone.

BRUNE (17) vérifie cette hypothèse en démontrant que cette synthèse dans l'inflammation est la principale cible des produits antiinflammatoires acides non stéroïdiques, seuls à apparaître à haute concentration dans le tissu enflammé. On les trouve, en effet, en concentration plus grande dans les tissus enflammés que dans les tissus témoins, et ils sont seuls capables, à dose thérapeutique, d'inhiber d'une façon significative la synthèse in vivo des prostaglandines.

Dans les phénomènes inflammatoires, il y a également fragilisation des membranes des lysosomes hépatiques avec libération d'enzymes sous forme libre, en particulier la β -glycuronosidase. La phénylbutazone agit au niveau de ces dernières en diminuant la redistribution des enzymes lysosomales de la fraction liée à la fraction libre, fraction qui migre vers le foyer inflamma-

toire. En augmentant la stabilité des membranes lysosomales du foie, elle inhibe l'expulsion des enzymes à partir des lysosomes (IGNARRO (48), POLLOCK (67)). Ces résultats ont été vérifiés, après administration per os ou par voie intraveineuse, en déterminant la fragilité osmotique et mécanique des lysosomes (IGNARRO (48)).

Un troisième élément intervient dans tout phénomène inflammatoire : ce sont les plaquettes sanguines. Il y a libération, à partir de ces cellules sanguines, de sérotonine et d'ADP, ce dernier permettant une agrégation consécutive provoquée par le collagène. Si l'aspirine joue un rôle très important au niveau de ces phénomènes, la phénylbutazone est beaucoup moins efficace mais cet effet n'est pas négligeable.

Enfin, elle agit au niveau de l'élimination de l'acide urique par le tubule rénal, en diminuant sa réabsorption par les cellules de ce dernier. Cette activité uricosurique est en relation avec la structure chimique et est exacerbée par une augmentation de l'acidité de la molécule. OGRYZLO (64) et BURNS (19) arrivent à la même conclusion (Tableau VIII).

BLUESTONE (9), chez l'Homme, démontre qu'elle réduit le transport des urates de 56 %, modification encore détectée 4 jours après la fin du traitement. Le mécanisme de ce phénomène est une compétition au niveau des sites de transport plasmatiques avec déplacement des urates. Ceci augmente leur clearance glomérulaire et par conséquent l'effet uricosurique.

III-2. Oxyphenbutazone

Selon WILHEIMI (92) elle agit par :

- réduction de la perméabilité capillaire,
- effet antagoniste contre certaines réactions à l'histamine, la sérotonine, la bradykinine et la hyaluronidase intervenant dans les phénomènes inflammatoires aigus,
- inhibition du métabolisme des mucopolysaccharides dans les états chroniques.

Comparée à la phénylbutazone, elle possède une action antirhumatismale et rétentric de l'eau et d'ions Na^+ légèrement supérieure, ceci grâce à la substitution sur son noyau benzène (HART (40)).

Elle a également un effet antipyrétique supérieur.

III-3. Hydroxyphénylbutazone

Par rapport à la phénylbutazone, elle possède des propriétés antirhumatismales et rétentric de l'eau et d'ions Na^+ très inférieures mais, par contre, une activité uricosurique bien supérieure à cause de la substitution sur la chaîne

Composé	Acidité (pKa)	Dose pour obtenir un effet uricosurique (mg)
G 13838	5,5	Aucun effet avec 1200
G 15235	4,9	Aucun effet avec 1200
Métabolite I	4,7	800 - 1000
Phénylbutazone	4,5	800 - 1000
Métabolite II	4,0	150 - 300
G 25671	3,9	150 - 300
G 28234	3,2	30 - 100
Sulfinpyrazone	2,8	30 - 70
G 32567	2,7	100 - 150
G 30249	2,0	30 - 70

TABLEAU VIII - Acidité et activité uricosurique des analogues de la phénylbutazone chez les sujets atteints de goutte.
(d'après BURNS (20)).

	Souris		Rat		Lapin
	I.V.	P.O.	I.V.	P.O.	I.V.
Phénylbutazone	112	680	150	1280	146
Métabolite I	52	480	68	980	104
Métabolite II	623	> 5000	-	-	-

I.V. = voie intraveineuse

P.O. = per os

TABLEAU IX - DL 50 (mg/kg) de la phénylbutazone.
(d'après DOMENJOZ (32)).

butyle (HART (40)). D'une manière générale, toute modification élevant l'acidité de la molécule augmente de ce fait cette propriété. BURNS (20) le montre dans le tableau VIII. L'activité uricosurique puissante des dérivés de la phénylbutazone hautement acides suggère qu'ils agissent sous forme ionisée pour bloquer la réabsorption de l'acide urique par le tubule rénal.

En résumé, la phénylbutazone agit donc principalement :

- par inhibition de la synthèse de prostaglandines,
- par stabilisation des membranes des lysosomes empêchant ainsi l'expulsion des enzymes migrant vers le foyer inflammatoire,
- en augmentant l'élimination de l'acide urique par diminution de sa réabsorption au niveau du tubule rénal.

IV - TOXICITE

DOMENJOZ (32) a étudié la toxicité aiguë de la phénylbutazone chez la souris, le lapin et le rat, per os et par voie intraveineuse. Les DL 50 sont reportées sur le tableau IX.

HEMMING (43), en recensant dans la littérature tous les accidents consécutifs à un traitement à la phénylbutazone, obtient la liste établie dans le tableau XIII.

Outre les accidents digestifs rapportés également par SIGUIER (75), SPERLING (77) note des troubles cutanés (prurit, éruptions maculopapuleuses) et hépatiques (hépatite, jaunisse temporaire).

VAUGHN (85) établit la liste des accidents dûs au traitement par l'oxyphenbutazone, en examinant 24 sujets. Ces effets sont de plusieurs types : anorexie, indigestion, nausée, diarrhée, hématurie, coliques rénales, troubles cutanés de type papuleux.

SPERLING (77) évalue également les réactions des sujets traités à la phénylbutazone en fonction du dosage et de la durée du traitement (Tableaux X, XI et XII).

De tous les troubles observés, ceux ayant trait à la sphère digestive ont été le mieux étudiés. Dans la genèse des accidents gastriques interviennent plusieurs facteurs :

- MAX (60) étudie le taux d'exfoliation des cellules épithéliales de la surface de l'estomac de chiens avant, pendant et après un traitement à la phénylbutazone. Il remarque que ce taux est augmenté et que la muqueuse gastrique est

Type de la réaction	Nombre de réactions		Pourcentage (%)	
	Total	Traitement discontinu	Total	Traitement discontinu
Prurit	21	15	3,6	2,5
Troubles gastrointestinaux	13	8	2,2	1,4
Stomatite	9	2	1,5	0,3
Rétention d'eau	8	2	1,3	0,3
Leucopénie	2	1	0,3	0,2
Ulcère peptique	1	1	0,2	0,2
Purpura	1	1	0,2	0,2
TOTAL	55	30	9,3	5,1

TABLEAU X - Types de réactions à la phénylbutazone
(d'après SPERLING (77)).

Dose journalière (mg)	Nombre de sujets	Nombre de réactions		Pourcentage	
		Total	Traitement discontinu	Total	Traitement discontinu
moins de 200	90	5	1	5,6	1,1
200 - 300	452	38	21	8,4	4,6
300 et plus	48	12	8	25,0	16,7
TOTAL	590	55	30	9,3	5,1

TABLEAU XI - Réactions à la phénylbutazone en fonction de la dose.
(d'après SPERLING (77)).

Durée du traitement (mois)	Nombre total de sujets sous traitement	Nombre de réactions	
		Total	Traitement discontinu
Moins de 1	590	37	26
1 - 6	299	15	3
7 - 12	86	3	1
Plus de 12	54	0	0

TABLEAU XII - Réactions à la phénylbutazone en fonction de la durée du traitement.
(d'après SPERLING (77)).

Oedème (22,32,42,60,88)	Hémorragies gastrointestinales (42,60,88)
Troubles gastrointestinaux (32,60,85,88)	Euphorie (61,88)
Réactivation d'ulcères peptiques (22,60,88)	Hématurie (61,88)
Anémie (22,60,88)	Thrombopénie (88)
Leucopénie (60,61)	Insomnie (62,88)
Stomatite (24,42,60)	Hypersalivation (22)
Vertige (22,60)	Agranulocytose (9,38,45,48,60,91,105)
Nervosité (60)	Fièvre (24,32)

TABLEAU XIII - Accidents dûs à la phénylbutazone.

(d'après HEMMING (43)).

(Les nombres indiqués entre parenthèses correspondent aux numéros de références bibliographiques).

affectée au point que la perte des cellules de surface s'accroît sans que le taux de renouvellement cellulaire augmente simultanément.

- MENGUY (61) examine chez le chien le mécanisme d'apparition des lésions de la muqueuse gastrique sous forme d'hémorragies, ou ulcérations franches après administration orale de phénylbutazone. Celle-ci diminue la quantité de mucus sécrété et le taux des glucides dans les mucosubstances non dialysables. Le mucus est composé d'un ensemble de complexes glucides-protéines résistant à la protéolyse. Une baisse du taux des glucides accélère sa digestion par les protéinases. La diminution du taux de mucus (qui joue un rôle protecteur sur la muqueuse gastrique) qui en résulte, accroît donc les possibilités d'agression de la muqueuse par le suc gastrique, par altération de ses mécanismes de défense.

- BARROY (7) considère l'effet d'un traitement chronique sur l'aspect histologique de la muqueuse gastrique et sur la sécrétion acide chez le chien. Une vasodilatation et un oedème généralisé de la muqueuse et de la sous-muqueuse du tractus gastrointestinal sont mis en évidence dès le 4ème jour du traitement. Ces troubles vasomoteurs semblent être un élément important dans la pathogénie de l'ulcère puisqu'aucune modification significative de la sécrétion acide n'est observée. Les hémorragies digestives seraient provoquées par l'action congestive de la phénylbutazone sur la muqueuse gastrique. Quant à la genèse des ulcères deux phénomènes interviennent :

- excrétion accrue de mucines et oedème du tissu conjonctif provoquant des érosions superficielles,

- effet cytotoxique et troubles vasomoteurs entraînant l'apparition d'ulcères profonds.

- Selon BONFILS (11), les lésions gastriques, uniquement glandulaires, apparaissent dès le 2ème-3ème jour et sont très nettes au 6ème. Elles débutent dans les cellules à pepsine et s'étendent vers la surface et la profondeur. Cette atteinte glandulaire est confirmée par une baisse considérable de l'activité chlorhydropeptique et se traduit par une gastrite ulcéreuse diffuse accompagnée d'hémorragies, ou par des ulcérations franches.

WILHEIMI (93) compare l'action ulcérogénique de la phénylbutazone selon les espèces. Si elle est modérément ulcérogénique chez le cobaye et la souris, elle l'est beaucoup plus chez le rat, le lapin et la chouette. Il en est de même avec l'oxyphenbutazone.

A côté des troubles digestifs, cette substance provoque des accidents rénaux dont la cause n'est pas encore bien connue.

ARNOLD (3) étudie les lésions rénales après administration orale d'une dose unique importante (400 mg/kg) chez le rat. Au bout de deux heures, il note dans 19 % des cas le développement d'une nécrose papillaire rénale dont la conformation des zones suggère une étiologie toxique directe. Il n'exclut pas une action par choc hémorragique, de nombreux animaux présentant des hémorragies gastrointestinales importantes. Les lésions rénales pourraient aussi être dues à une inhibition de la synthèse des prostaglandines.

Le même auteur, ARNOLD (4), reprenant ses travaux sur le rat afin de déterminer la plus petite dose de phénylbutazone capable de provoquer une nécrose papillaire, trouve la valeur de 50 mg/kg de poids vif. Travaillant également sur l'oxyphenbutazone à la dose de 444 mg/kg de poids vif, il observe une nécrose corticale qui devient plus importante après administration régulière du produit pendant 4 jours, malgré une certaine régénération tissulaire. Par contre, elle ne provoque pas de nécrose papillaire, uniquement de temps en temps une légère congestion de la papille.

V - EFFETS SECONDAIRES

V-1. Action sur le foie

La phénylbutazone exerce une action sur les enzymes lysosomales du foie. PLATT (66) étudie ces effets chez le rat après administration de phénylbutazone et d'oxyphenbutazone en mesurant l'activité des 3 enzymes : la hyaluronidase, la β -glycuronosidase et la β acétyl-glucosaminidase. Il observe que :

- après une administration pendant 2 jours leur taux sous forme libre diminue,
- après une administration pendant 14 jours il augmente,
- sur des rats prétraités à l'oxyphenbutazone, après une administration de 2 jours, il n'y a pas de différence entre les animaux en expérimentation et les témoins,
- dans le foie de rats prétraités à l'oxyphenbutazone, l'activité des 3 enzymes sous forme libre ou conjuguée augmente d'une façon significative.

Ces différents résultats sont la conséquence de lésions des membranes des mitochondries et des lysosomes confirmées par la microscopie électronique.

V-2. Action sur le rein

Selon SPERLING (77), les patients traités subissent une rétention d'eau et d'ions Na^+ pendant la première semaine du traitement qui en général ne se manifeste pas par un oedème visible cliniquement.

HEMMING (43) retrouve les mêmes inconvénients :

- augmentation de poids, oedèmes, rétention d'eau à partir du 2ème ou 3ème jour avec un maximum au 5ème jour,
- diminution temporaire du volume d'urine avec rétention d'ions Na^+ et Cl^- .

Selon CAMPBELL (23), elle provoque une rétention de sel et d'eau chez environ 80 % des patients traités avec un oedème clinique ne devenant manifeste que chez environ 10 % des sujets.

Le mécanisme d'action de la phénylbutazone au niveau du tubule rénal serait une inhibition du métabolisme de ses cellules due certainement à une diminution de la respiration cellulaire.

V-3. Action sur les chromosomes

STEVENSON (79) travaillant sur des sujets ayant pris de la phénylbutazone pendant au moins 3 mois remarque que le taux des cellules chromosomiquement lésées (chromosomes dicentriques) est plus élevé chez les sujets traités que chez les témoins (2 % au lieu de 0,48 %). Il semble qu'il y ait également des lésions chromosomiques des lymphocytes.

Le même auteur a fait des recherches chez le cheval (STEVENSON (80)). Les animaux traités à dose thérapeutique normale montrent des lésions chromosomiques dans une proportion plus élevée mais non significative par rapport aux témoins.

Le problème reste donc entier et demande à être étudié d'une manière plus approfondie.

VI - USAGE THERAPEUTIQUE

La phénylbutazone a des propriétés analgésiques, antiinflammatoires et antipyrétiques. Son utilisation chez l'Homme a été centrée dès le début sur le traitement des rhumatismes et des troubles arthritiques. HEMMING (43), QUIN (69) avancent comme indications thérapeutiques :

Arthrite goutteuse aiguë	Capsulite
Arthrite rhumatismale	Myofibrosite aiguë
Ostéoarthrite	Bursite
Spondylite rhumatismale	Epicondylite
Arthrite psoriatique	Fibrosite
Maladie de Paget	Tendinite calcifiante
Péritendinite aiguë	Arthralgies post-ménopausiques

De nombreux auteurs ont cherché quelle était la dose journalière nécessaire pour obtenir un effet curatif. Pour contrôler l'efficacité de ces posologies, les concentrations plasmatiques optimales correspondant à l'action thérapeutique maximale sont évaluées. Nous avons regroupé dans le tableau ci-dessous les opinions des différents auteurs.

	Concentration plasmatique optimale	Posologie
BURNS (18)	60 à 150 mg/l	
WILSON (94)	50 à 100 mg/l	Dose initiale : 800 mg/j puis 200 mg quatre fois par jour
CURRIE (28)	80 à 110 mg/l au début du traitement, puis 46 à 80 mg/l	
BRUCK (16)	50 à 90 mg/l sans jamais dépasser 100 mg/l	Dose initiale : 200 mg/j puis augmentation de 100 mg/j jusqu'à obtenir une réponse satisfaisante
QUIN (69)	80 à 110 mg/l	600 mg/j les 2 premiers jours, 400 mg/j les 2 jours suivants puis 100 à 200 mg/jour jusqu'à guérison

Toutes ces doses sont fractionnées dans la journée. Il faut noter qu'elles varient avec les individus.

La phénylbutazone est également utilisée avec succès chez les animaux.

CHIEN	Arthrite chronique	JOSHUA (52)
	Arthrite traumatique Ostéoarthrite Spondylite ankylosante Spasmes musculaires avec anomalies des disques intervertébraux	BARRAGUY (6)
CHEVAL	Arthrite chronique Contusion d'un membre postérieur Blessure de la 3ème phalange (*) Fourbure chronique (*) Boiteries consécutives à	SUTTER (82)
	} polyarthrite } éparvin } arthrite du grasset ou } de la hanche } arthrose vertébrale Boiterie aiguë = indication majeure Boiterie chronique Ostéoarthrites Bursites	
		BARRAGUY (6)

(*) Cas où le traitement a une efficacité douteuse sinon nulle.

La posologie optimale pour BARRAGUY (6) est de 10 mg/kg de poids vif per os avec un maximum de 4 g/j pendant 5 jours ou de 15 mg/kg par voie intraveineuse (on utilise le sel de sodium). Dans tous les cas, cette thérapeutique n'est jamais curative mais uniquement palliative.

Chez le cheval, après un traitement à dose thérapeutique, il n'existe aucun effet secondaire sur le pouls, la fréquence respiratoire, l'électrocardiogramme et l'hémogramme. Cependant, en cas de surdosage ou de doses répétées trop longtemps (2 g/j pendant 32 jours), BARRAGUY (6) et GABRIEL (37) observent une phlébite nécrosante de la veine porte et des lésions gastriques ulcératives semblables à celles constatées chez l'Homme.

VII - UTILISATION DE LA PHÉNYLBUTAZONE EN VUE DU DOPAGE DES CHEVAUX

Depuis que la phénylbutazone a été mise sur le marché des médicaments en tant qu'analgésique et antiinflammatoire, les professionnels du milieu équin ont tout de suite vu en ce produit un médicament très actif, facile d'emploi pour lutter contre les boiteries du cheval. A côté du problème uniquement thérapeutique, certaines personnes mal intentionnées l'ont utilisée afin de rétablir ses

performances normales à un cheval qui présentait des troubles locomoteurs dûs à des phénomènes arthritiques. C'est le dopage. Si, pendant longtemps, elle n'a pas été considérée comme un agent dopant, depuis 1971, contrairement à certains états des U.S.A., les commissaires des courses de France, Grande Bretagne et Irlande, ont dicté leur interdiction d'utiliser la phénylbutazone sur les chevaux de sport en pleine saison des courses (2). Le Collège Royal Vétérinaire de Grande Bretagne, quelques temps après, annonçait que "les vétérinaires, sous peine de sanction, ne doivent pas administrer de phénylbutazone ou autres drogues à des chevaux avant la course. Si cela est cependant nécessaire, ils doivent prévenir l'entraîneur des dangers encourus si le cheval doit courir peu de temps après. Celui-ci prendra, en connaissance de cause, le risque de faire injecter ces produits. Bien que le temps d'élimination soit encore mal connu, cela ne peut en aucun cas être une excuse pour le vétérinaire qui aura administré le produit" (2).

De nombreux auteurs se sont intéressés à ce problème. DUNN (34) met en garde les propriétaires et les vétérinaires contre l'emploi abusif de ce médicament. HOPES (46) en soumettant le problème de savoir où se termine le traitement et où commence le dopage, souligne la responsabilité du vétérinaire. MOSS (63), reprenant les idées de HOPES, essaye de prévenir les vétérinaires des risques qu'ils prennent et demande à ce qu'ils soient bien informés. ALEXANDER (1), en 1972, les avertit de certains laboratoires se proposant d'effectuer des recherches de phénylbutazone dans le sang afin d'aider les praticiens à établir des certificats de bonne santé. Il rappelle que la concentration sanguine ne renseigne pas, aussi bien que la concentration urinaire, le propriétaire sur la présence ou non de produit et que l'absence dans l'urine n'établit pas nécessairement que l'animal est exempt de phénylbutazone. BARRAGUY (6) confirme cet état de fait.

Depuis cette époque, des progrès ont été réalisés dans la détection à partir du sang et DONIKE (33), en 1976, insiste sur la nécessité d'utiliser des détecteurs sensibles et sélectifs afin d'éviter toute possibilité de "faux positifs" et une surcharge de travail dans la détection de routine.

C'est dans cet état d'esprit que nous avons entrepris notre expérimentation.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE PHARMACOCINETIQUE

ETUDE PHARMACOCINETIQUE

L'utilisation, dans un but frauduleux, de la phénylbutazone chez le cheval a posé très rapidement le problème de la cinétique d'élimination de ce produit. La connaissance dans le temps de la présence du médicament, son identification et son dosage constituent l'objet de notre travail. Nous avons également vérifié son absence de toxicité sur différents organes en dosant quelques constantes sanguines.

I - ETUDE ANALYTIQUE DE LA PHENYL BUTAZONE

Il nous paraît nécessaire, auparavant, de résumer les différentes techniques de dosage utilisées jusqu'à présent.

- Méthodes colorimétriques

Dès 1953, BURNS (18) propose un dosage par spectrophotométrie UV directe à 265 nm. Il dose cependant en même temps les métabolites. HERMANN (44) améliore la spécificité de la méthode en la séparant de ceux-ci, après extraction dans un solvant organique, par lavage répété de la phase organique dans un tampon phosphate. WALLACE (89) réalise son oxydation en azobenzène par le permanganate mais sa méthode est très longue et peu reproductible. JAHNCHEN (49) reprend ses travaux et, oxydant la phénylbutazone avec le permanganate, dose l'azobenzène ainsi obtenu à 314 nm. Il retrouve alors jusqu'à 2 ppm dans 0,1 ml d'échantillon et aucune interférence n'est apportée par les deux métabolites principaux.

BOGAN (10) met en évidence les carences de cette méthode chez le cheval. En effet de nombreuses substances organiques (telle que la coumarine provenant du foin) peuvent interférer et entraîner de faux positifs. Par contre on a également des faux négatifs : alors que l'on ne retrouve plus de phénylbutazone dans le plasma, une analyse d'urine se révèle encore positive pendant 2 jours. FINOCCHIO (36) confirme ce dernier résultat. Après une injection par voie

intraveineuse de 2 g de phénylbutazone pour un cheval de 450 kg :

- elle présente un taux maximal dans l'urine entre 19 et 24 heures après l'injection, mais est absente après 48 heures,

- l'oxyphenbutazone est encore présente dans l'urine 48 heures après l'administration

48 heures	:	7 ppm
48 heures 20 mn	:	9 ppm
52 heures 45 mn	:	2 ppm

Si l'on utilise cette méthode de dosage, il est donc recommandé d'utiliser l'urine pour éviter toute erreur.

- Méthodes reposant sur la chromatographie en phase gazeuse

WATSON (90) utilise la chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme pour le contrôle des matières premières. Cette méthode est également utilisée pour le dosage de la phénylbutazone dans le plasma humain. TANIMURA (83), MAC GILVERAY (59), SABIH (74) le font avec succès : la substance est dosée directement après une extraction simple à partir de plasma acidifié. Les concentrations minimales détectables sont comprises entre 2 et 6 ppm. HASEGAWA (41), en utilisant un détecteur à capture d'électrons, arrive à diminuer cette limite de détection au niveau de 0,5 à 1 ppm.

POUND (68), par la chromatographie liquide haute pression, apporte une spécificité et une limite de détection (2 ppm) comparables.

De toutes ces données, il ressort que le dosage de la phénylbutazone dans le sang doit être effectué à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse. On obtient ainsi des résultats significatifs et interprétables, conditions nécessaires d'un dépistage du dopage éventuel chez le cheval.

Compte tenu de toutes les méthodes que nous venons de voir, nous nous sommes donc orientés vers une identification et un dosage de la phénylbutazone par chromatographie en phase gazeuse après une extraction acide.

I-1. Extraction

La figure 3 résume les diverses étapes de l'extraction de la phénylbutazone libre à partir d'un liquide biologique (sang ou urine).

Le résidu sec est repris par 200 μ l d'éthanol bidistillé. La solution ainsi obtenue est injectée dans le chromatographe.

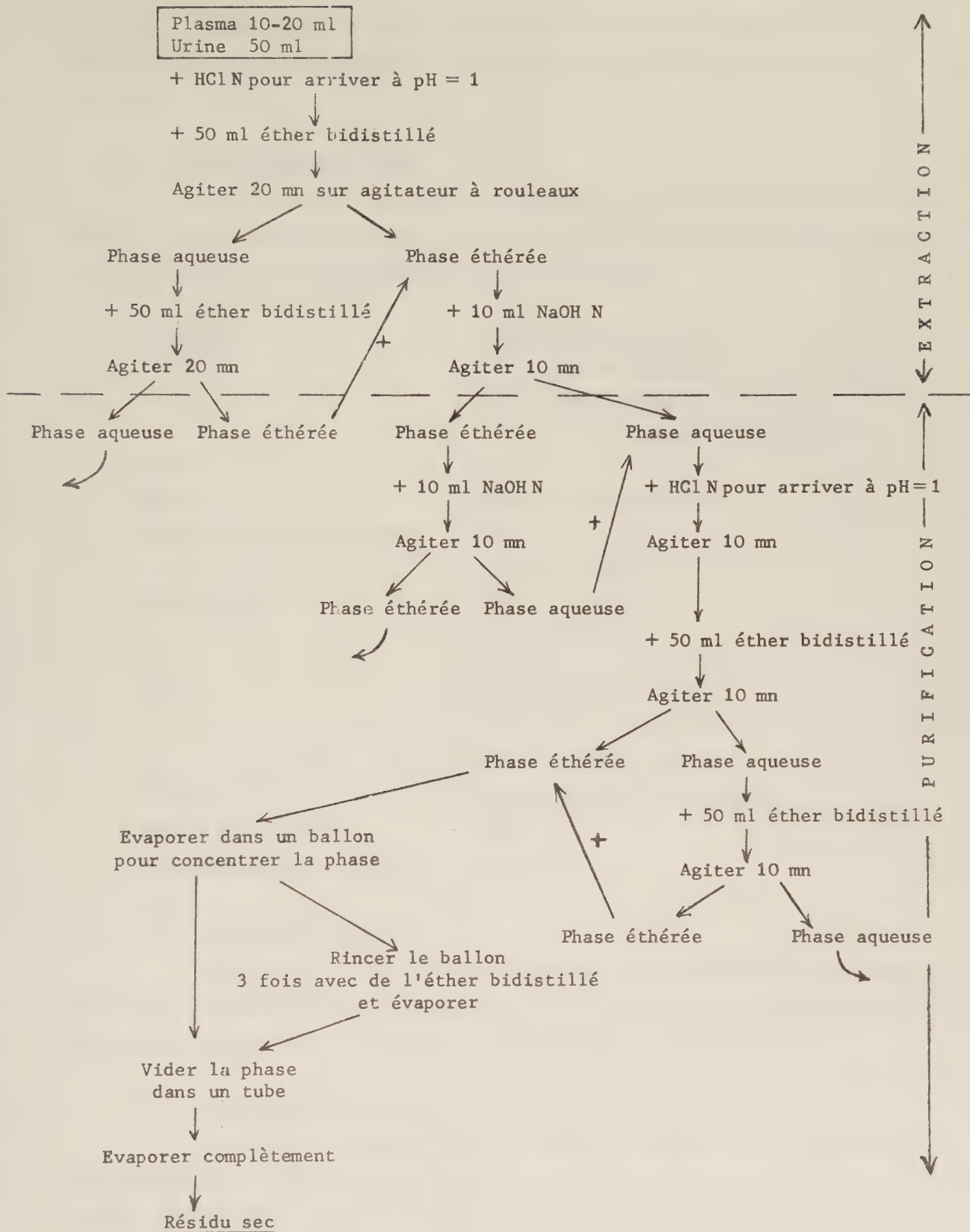


FIGURE 3 - Extraction - Purification de la phénylbutazone.

Dans ces conditions, le rendement moyen de l'extraction est de 70 pour cent pour des concentrations de phénylbutazone comprises entre 0,2 et 100 ppm.

I-2. Identification et dosage

Dans l'extrait obtenu, la phénylbutazone est identifiée et dosée par chromatographie en phase gazeuse en injectant 5 μ l de la solution dans l'appareil. Les conditions de chromatographie sont les suivantes :

Appareil	PACKARD BECKER type 417
Détecteur	Ionisation de flamme avec buse en quartz
Colonne	Verre silylé } longueur 2 mètres } diamètre intérieur 3 mm
Phase	OV 17
Support	Supelcoport 100/120 mesh
Pourcentage d'imprégnation	3 %
Températures	} Injecteur 300°C
	} Four 260°C
	} Détecteur 300°C
Débits	} Azote HP 60 ml/mn
	} Hydrogène HP 40 ml/mn
	} Air 300 ml/mn
Enregistreur	} KIPP et ZOONEN type BD 7
	} Vitesse de défilement 5mm/mn
Indice de rétention	2806
Temps de rétention réduit	4 mn

I-2-1. Analyse qualitative

Elle est réalisée par la méthode des indices de KOWATS (ou indices de rétention). Mesuré à 260°C sur une phase OV 17, l'indice de rétention est de 2806. Mesuré sur une phase OV 1 à 240°C il est de 2407.

I-2-2. Analyse quantitative

La courbe d'étalonnage est réalisée en injectant des solutions de phénylbutazone à concentration connue. Nous avons injecté ainsi 5 μ l des solutions à 100, 50, 25, 12,5, 6,25 et 3,125 ppm, avec une seringue de précision type HAMILTON de 10 μ l. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau XIV.

Concentration (ng/ μ l = ppm)	Atténuation	Hauteur du pic (mm)	Largeur du pic (mm)	Surface du pic (mm ²)
100	8	147	1,5	220,5
100	8	143	1,5	214,5
100	8	132,5	1,5	198,75
50	8	60	1,5	90
25	8	21	1,5	31,5
12,5	8	4,5	2	9
12,5	8	5,75	2	11,5
6,25	8	2	1,7	3,4
3,125	8	1	1,5	1,5

TABEAU XIV - Valeurs des surfaces des pics obtenus avec les solutions étalons de phénylbutazone en vue de l'établissement de la courbe d'étalonnage.

La courbe est tracée : surface du pic (calculée par triangulation) fonction de la concentration.

La figure 4 représente la courbe obtenue.

Pour des concentrations comprises entre 12,5 et 100 ppm, la droite d'étalonnage a pour équation :

$$y = 1,71 x - 11,24$$

Pour des concentrations plus faibles, entre 3 et 12,5 ppm, la surface du pic n'est plus proportionnelle à la quantité injectée. Ce phénomène d'absorption implique l'emploi d'une solution étalon dont la concentration se rapproche le plus possible de celle de l'extrait à doser.

La méthode analytique utilisée permet donc de doser la phénylbutazone à une concentration de 0,2 ppm à partir de 10 ml de plasma. Une concentration d'environ 0,1 ppm peut être décelée mais non quantifiée.

Nous avons appliqué cette méthode à l'étude pharmacocinétique de la phénylbutazone chez le cheval.

II - ETUDE PHARMACOCINETIQUE CHEZ LE CHEVAL

Nous avons cherché dans ce travail à déterminer la durée d'élimination de la phénylbutazone chez le cheval après une ou plusieurs administrations selon les voies d'administration les plus couramment utilisées en médecine équine : parentérale (dans notre cas, la voie intramusculaire), orale, locale. La recherche d'une toxicité éventuelle a été effectuée par dosage de constantes sanguines.

II-1. Protocole expérimental

II-1-1. Animaux

Nous avons utilisé en tout 5 chevaux hongres, âgés de 13 à 17 ans, de race Selle Français.

II-1-2. Doses et modes d'administration

Deux séries d'expérience ont été mises en oeuvre. La première expérimentation consiste en une administration unique du produit sous ses trois formes, la deuxième en une administration par voie intramusculaire à doses répétées selon le protocole thérapeutique utilisé dans la médecine courante.

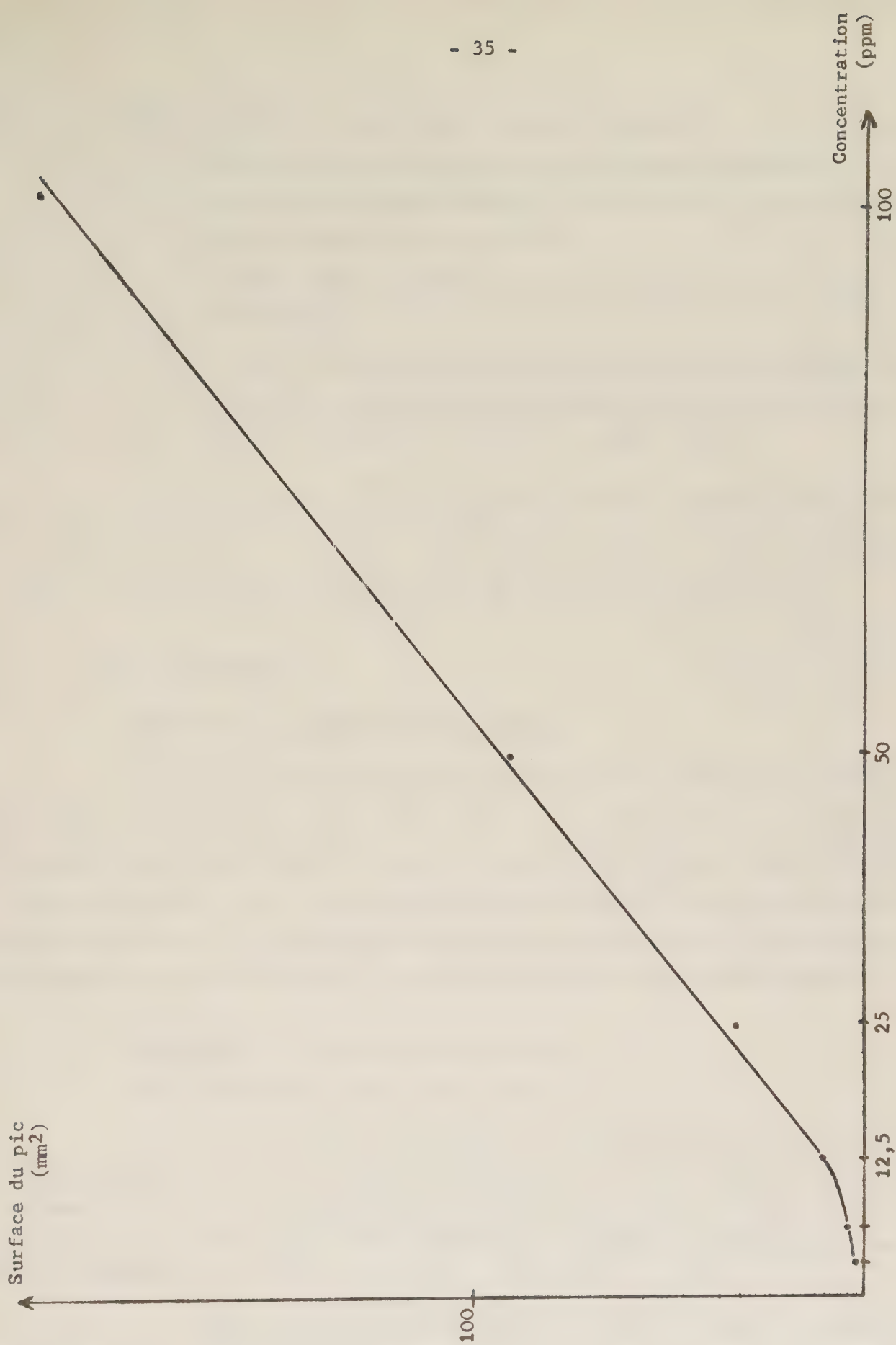


FIGURE 4 - Courbe d'étalonnage de la phénylbutazone.

- Dans l'expérience A nous avons utilisé 3 chevaux :

- le 1er reçoit une injection intramusculaire profonde, à l'encolure, de phénylbutazone à la dose de 4 g soit 20 ml d'une solution commerciale dosée à 20 %,
- le 2ème reçoit le produit per os sous forme de 2 bolus soit 3 g de médicament,
- le 3ème est traité localement sous forme d'une application locale de pommade au niveau du carpe gauche. On lui applique 10 g de pommade correspondant à 500 mg de produit actif.

- Dans l'expérience B deux chevaux sont utilisés. Ils reçoivent chacun 20 ml de la solution commerciale de phénylbutazone, soit 4 g de produit actif, les 2 premiers jours puis 10 ml, soit 2 g de produit, pendant 4 jours. Cette administration correspond au protocole thérapeutique utilisé en médecine équine.

II-1-3. Prélèvements

a) Expérience A : administration unique

Les prélèvements sanguins sont effectués régulièrement par ponction de la veine jugulaire aux temps 30 mn, 1 h, 1 h 30, 3 h, 6 h, 24 h, 72 h et 96 h. Les échantillons sont prélevés dans des tubes héparinés sous vide. Ils sont immédiatement centrifugés (7000 t/mn pendant 10 mn) et on récupère le sérum avec une pipette automatique. La fraction hématies est éliminée. Le plasma est transvidé dans des tubes secs et conservé au congélateur jusqu'au moment de l'analyse. Des prélèvements ont été effectués la veille afin d'obtenir des sérums témoins.

b) Expérience B : administration répétée

Les prélèvements sont de deux sortes :

- sang : le sang est récupéré par ponction de la veine jugulaire à l'aide de tubes héparinés sous vide. Les prélèvements sont effectués régulièrement aux temps 1 h, 3 h, 6 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 5 j, 6 j, 7 j, 8 j, 9 j, 10 j, 11 j, 12 j, 13 j, 14 j et 15 j. Le sang obtenu est traité de la même façon que dans l'expérience A.

- urine : les prélèvements sont effectués à l'aide d'un urinal, aux mêmes temps que le sang. Si les chevaux, lors de la première pose de l'appareil, ont montré quelque nervosité, nous n'avons eu par la suite aucune difficulté à fixer les sangles de l'urinal sur la croupe de l'animal. Un des deux chevaux cependant a refusé systématiquement d'uriner après la pose de l'appareil ce qui nous a obligé à travailler sur un seul animal. L'urine est recueillie à inter-

valles réguliers : l'urinal est installé et enlevé à heure fixe chaque jour afin de rester aussi proche que possible des conditions de la pratique dans laquelle le vétérinaire fait un prélèvement ponctuel d'urine.

c) Etude des constantes sanguines

Au cours de l'expérience B, une partie du sérum prélevé a servi à faire des dosages de certaines constantes sanguines afin de voir si des modifications intervenaient sur les taux de ces paramètres. Nous avons ainsi dosé l'urée, les lactodéshydrogénases LDH, les transaminases SGOT et SGPT, les bilirubines libre et conjuguée.

II-1-4. Préparation des prélèvements

a) Expériences A et B

Les prélèvements sanguins et urinaires ont été traités selon le protocole présenté dans la figure 3. Aucun problème n'a été soulevé dans sa réalisation et tout s'est passé pour le mieux, dans la mesure où le travail a été bien planifié de façon à éviter toute perte de temps.

b) Dosage des constantes sanguines

Tous les prélèvements ont été dosés à l'aide de kits délivrés par le laboratoire BIOMERIEUX (Marcy l'Etoile 69260 Charbonnières les Bains). Ces kits ont l'avantage de fournir tous les réactifs nécessaires au dosage. Bien que, destinés au départ à des analyses portant sur du sérum humain, nous nous sommes rendu compte qu'ils étaient tout à fait applicables au cheval et donnaient des résultats très bien interprétables.

- Urée : Uree-kit n° 6-191 1

Principe : Le sérum à examiner est mis à incuber avec l'uréase à la température du laboratoire sans déprotéinisation ni centrifugation préalables. Le dosage colorimétrique des ions ammonium formés est alors effectué par la réaction de Berthelot. Après addition des réactifs phénol-nitroprussiate et soude-hypochlorite, la coloration bleue obtenue est évaluée au photomètre à 623 nm.

- LDH : Déshydrogénases lactiques-kit n° 6-112 1

Principe : La LDH catalyse la transformation du pyruvate en lactate avec oxydation du $\text{NADH} + \text{H}^+$ en NAD^+ :

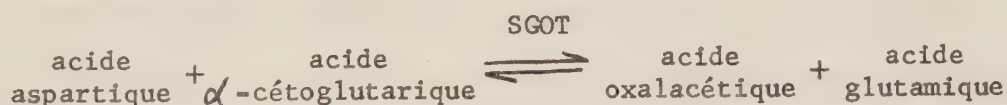


La quantité de pyruvate transformée en lactate est directement proportionnelle à l'activité LDH. Le pyruvate non transformé est dosé par la réaction colorée qu'il donne avec la 2-4 dinitrophénylhydrazine en milieu alcalin. Une solution de pyruvate étalonée donne en présence de la 2-4 dinitrophénylhydrazine une densité optique bien déterminée. Sur une telle solution, l'action de la LDH se traduit par une baisse de densité optique d'autant plus forte que la LDH est présente en plus grande quantité.

- Transaminases : Transaminases-kit n° 6-170 1
.....

Principe : Les transaminases glutamique-oxalacétique (SGOT) et glutamique-pyruvique (SGPT) catalysent les réactions suivantes :

SGOT : réaction 1



SGPT : réaction 2



Le pyruvate formé (soit directement dans la réaction 2, soit par décomposition de l'acide oxalacétique dans la réaction 1) donne une coloration brune avec la 2-4 dinitrophénylhydrazine en milieu alcalin. La méthode de dosage colorimétrique de Reitman et Frankel consiste à apprécier la quantité d'acide pyruvique ou oxalacétique formée au cours de la réaction de transamination, par l'intermédiaire de la 2-4 dinitrophénylhydrazine.

- Bilirubines libre et conjuguée : Bilirubine-kit n° 6-103 1
.....
Icto-Trol lyophilisé n° 6-235 1

Principe :

. Bilirubine libre ou indirecte : après oxydation des fractions conjuguées par le réactif phosphonitreux selon Monnet, la bilirubine libre est dosée par la réaction de diazotation d'Hijmans Van den Berg en présence d'un révélateur à base de caféine. La lecture de la coloration se fait en milieu alcalin ce qui augmente nettement la sensibilité de la réaction.

. Bilirubine conjuguée ou directe : la bilirubine conjuguée est dosée par la réaction de diazotation en l'absence de réactif révélateur.

II-1-5. Dosage de la phénylbutazone dans les échantillons

Les extraits purifiés sont analysés et dosés par chromatographie en phase gazeuse dans les conditions indiquées dans le paragraphe I-2.

II-2. Résultats

Des exemples de chromatogrammes sont rapportés sur la figure 5 représentant :

- une solution étalon de phénylbutazone,
- un extrait de sérum contenant la substance recherchée,
- un blanc.

II-2-1. Expérience A

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau XV.

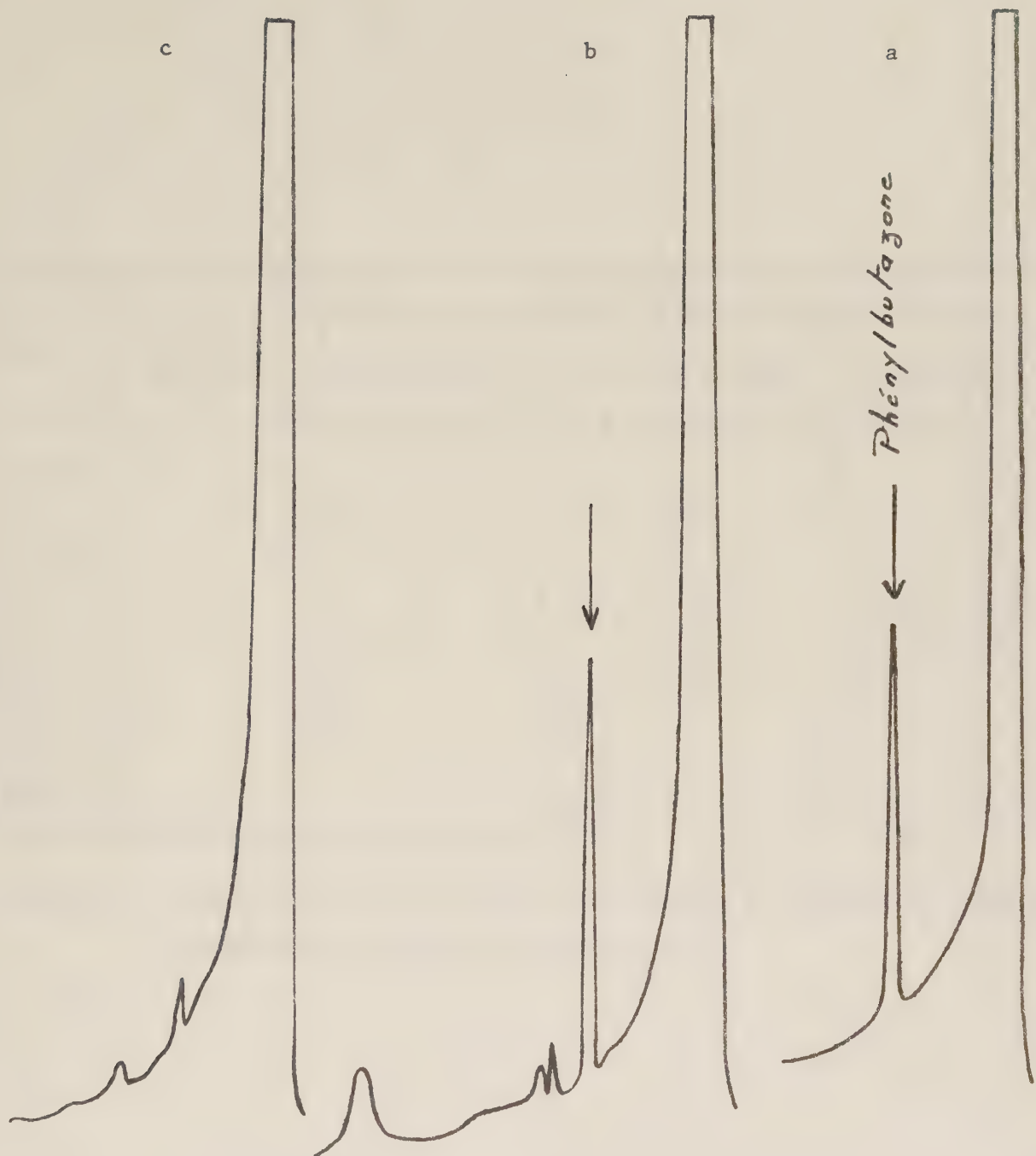
La figure 6 résume l'évolution des concentrations plasmatiques. La concentration est maximale 3 heures après une injection intramusculaire (5,34 ppm) et on retrouve de la phénylbutazone jusque 48 heures après l'injection. La concentration est maximale 6 heures après l'absorption orale (2,15 ppm). Par contre, après une application locale, la phénylbutazone n'est décelée qu'à l'état de traces dans le sérum.

Nous avons également déterminé la demi-vie de la phénylbutazone après une injection intramusculaire du produit. En construisant la courbe log (concentration plasmatique) fonction du temps et en étudiant la portion descendante de la courbe c'est-à-dire celle correspondant à l'élimination de la phénylbutazone, on trouve une valeur de 6 heures, valeur en accord avec celle de la majorité des auteurs (figure 7).

II-2-2. Expérience B

Le tableau XVI résume les résultats obtenus.

La figure 8 donne l'évolution des concentrations plasmatiques. On note toujours une concentration maximale de phénylbutazone 3 heures après la première injection. Elle atteint cependant son pic maximal après la deuxième injection 24 heures plus tard. Le taux sanguin diminue rapidement pour atteindre un palier maintenu grâce aux injections répétées de phénylbutazone à dose moitié moindre. Le produit n'est plus dosable dans le sang, pour le cheval 1,



- a : étalon de phénylbutazone (Atténuation 16)
b : extrait de sérum (Atténuation 32) (3 heures après l'injection intramusculaire de phénylbutazone)
c : blanc (Atténuation 16)

FIGURE 5 - Exemple de chromatogrammes

Temps	Concentration en ppm dans le prélèvement plasmatique		
	Injection intramusculaire	Absorption orale	Application locale
30 mn	0,77	-	0
1 h	2,50	0,57	0
1 h 30	4,73	-	-
3 h	5,34	1,68	0,1
6 h	3,48	2,15	0,1
24 h	0,64	0,61	0,1
48 h	0,50	0	0
72 h	0	0	0
96 h	0	0	0

TABLEAU XV - Variation des concentrations plasmatiques en fonction du temps après administration unique de phénylbutazone.

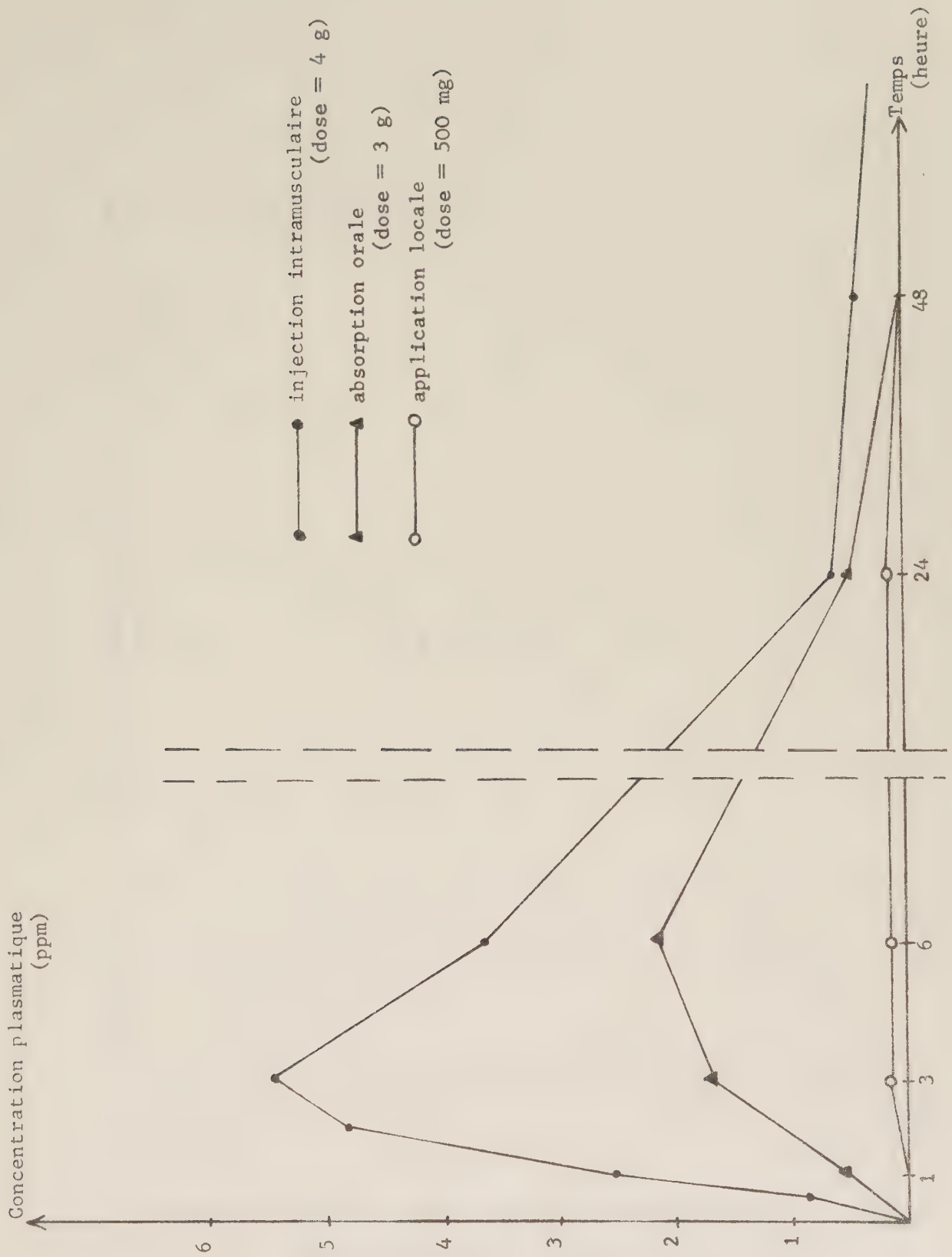


FIGURE 6 - Evolution de la concentration plasmatique après une administration unique de phénylbutazone.

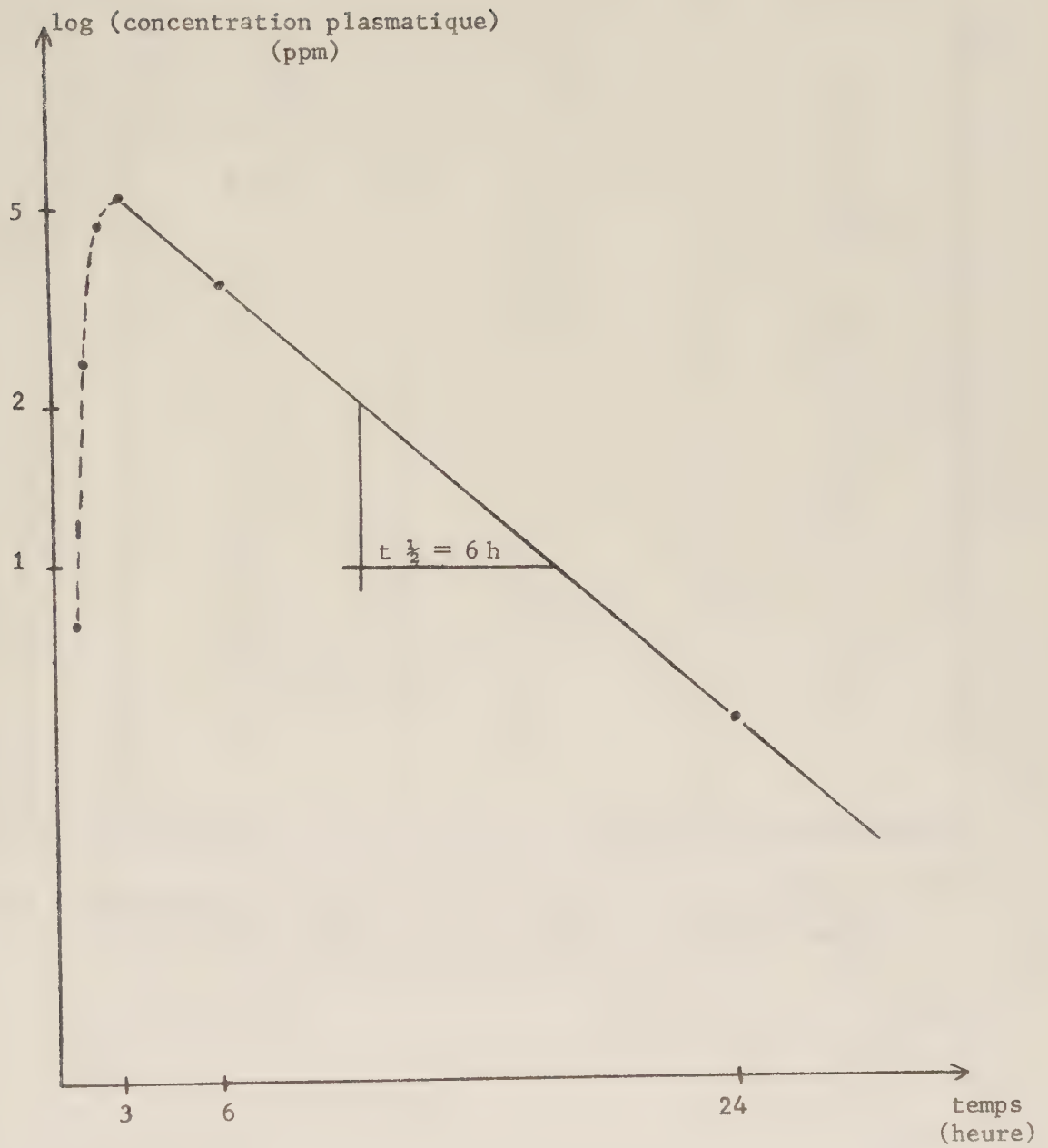


FIGURE 7 - Demi-vie plasmatique de la phénylbutazone
après une injection intramusculaire unique.
(dose = 4 g)

Temps	Concentration en ppm dans le prélèvement		
	Sérum cheval 1	Sérum cheval 2	Urine cheval 2
1 h	7	2,88	-
3 h	14,22	6,63	5,9
6 h	12	1,5	16,56
24 h	20,3	3,63	9,6
48 h	5	0,4	6,23
72 h	1,7	0,36	-
96 h	0,5	0,51	4,7
5 j	2	1,5	2,5
6 j	0,9	0,6	2,1
7 j	0,2	0	1
8 j	0	0	0
9 j	0	0	0
10 j	0	0	0
11 j	0	0	0
12 j	0	0	0
13 j	0	0	0
14 j	0	0	0
15 j	0	0	0

TABEAU XVI - Variations des concentrations plasmatique et urinaire en fonction du temps après administration répétée de phénylbutazone.

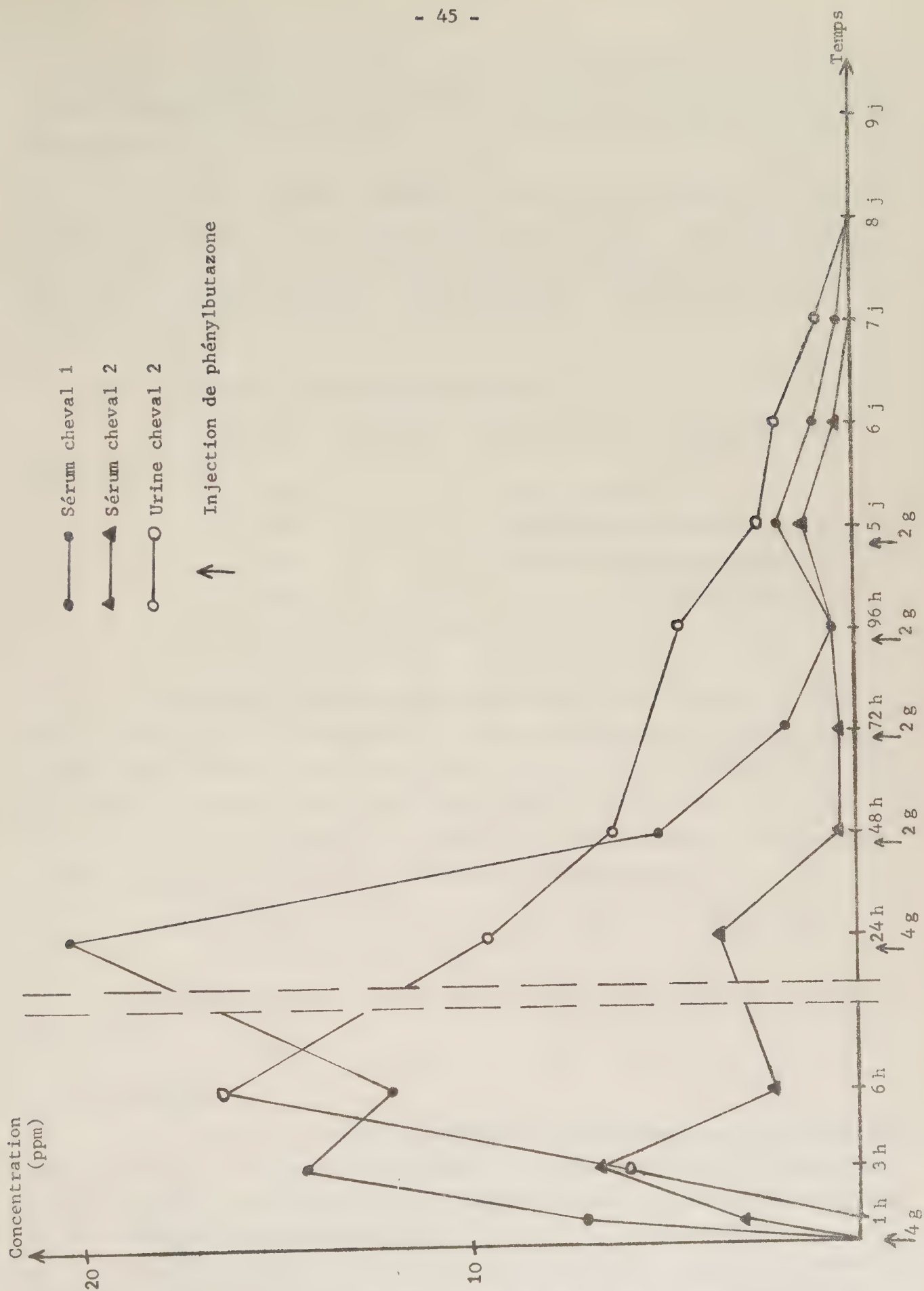


FIGURE 8 - Evolution de la concentration plasmatique et urinaire après administration répétée de phénylbutazone par voie intramusculaire.

3 jours après la dernière injection et, pour le cheval 2, 2 jours après la fin du traitement (résultat identique à celui observé après une administration unique de phénylbutazone).

La figure 8 résume également l'évolution des concentrations de phénylbutazone dans l'urine. On note un maximum de concentration 6 heures après la première injection, puis les injections suivantes maintiennent un taux de substance qui va en diminuant lentement pour disparaître au 8ème jour c'est-à-dire 3 jours après la dernière injection du produit.

II-2-3. Action sur les constantes sanguines

Nous avons dosé 6 constantes sanguines dont les valeurs normales chez le cheval sont :

Urée	0,25 à 0,47 g/l
LDH	210 à 530 U (Wroblewski)/ml
SGOT	160 à 420 U (Reitman-Frankel)/l
SGPT	2,2 à 14 U (Reitman-Frankel)/l
Bilirubine indirecte	2,5 à 20 mg/l
Bilirubine directe	1 à 10 mg/l

Aucune modification n'a été remarquée en ce qui concerne les taux d'urée, de SGOT et des 2 bilirubines. On observe cependant une certaine élévation du taux d'urée dans les premiers jours ainsi que de celui des bilirubines au début et à la fin du traitement. Ces valeurs restent cependant dans les limites de la normale.

A propos de la LDH et de la SGPT, sur un des chevaux on note le même phénomène que pour les bilirubines alors que le deuxième montre :

- une augmentation des LDH entre le 10ème et le 13ème jour,
- une augmentation constante de la SGPT.

Les résultats sont indiqués sur les figures 9 à 14 et les tableaux XVII et XVIII.

II-3. Discussion

Le travail que nous avons effectué sur l'élimination de la phénylbutazone nous permet de conclure que, quel que soit le mode utilisé, après une administration unique, la substance diffuse rapidement dans l'organisme. Dans tous les cas, la concentration de phénylbutazone libre est très faible, résultat en accord avec la littérature et qui s'explique très bien par le fait que la phénylbutazone à dose thérapeutique est très fortement liée aux protéines plasmatiques (96 %) (GANDAL (38)).

Temps	Urée g/l	LDH Unités W/ml	S GOT Unités (RF)/l	S GPT Unités (RF)/l	Bilirubine libre mg/l	Bilirubine conjugée mg/l
* 1 h	0,36	567	233	19	8	2,2
3 h	0,38	375	223	15	8	1,8
6 h	0,32	187	210	13	9,3	1,65
24 h	0,47	407	215	19	10,7	2,3
48 h	0,40	567	227	25	10,7	1,8
72 h	0,39	375	200	19	16	3,9
96 h	0,35	300	220	15	18,7	2,9
5 j	0,37	600	208	21	13,4	1,1
6 j	0,38	487	230	19	8	1,5
7 j	0,35	700	210	17	6,7	4,8
8 j	0,30	600	235	19	8	3
9 j	0,30	567	230	17	5,3	3,6
10 j	0,30	867	238	25	14,7	1
11 j	0,29	525	242	21	17,4	1,8
12 j	0,26	375	235	17	8	5,5
13 j	0,39	300	227	7,5	12	6,6
14 j	0,26	567	230	2,5	21,4	4,6
15 j	0,24	640	225	2,5	20	5,1

TABEAU XVII - Variations des constantes sanguines en fonction du temps (cheval n° 1)

* Injection de phénylbutazone W = Wroblewski RF = Reitman-Frankel

Temps	Urée g/l	LDH Unités W/ml	S GOT Unités (RF)/l	S GPT Unités (RF)/l	Bilirubine libre mg/l	Bilirubine conjugée mg/l
* 1 h	0,27	407	174	12	5,3	4
3 h	0,23	280	183	-	6,7	4,8
6 h	0,29	425	166	10	9,3	1,1
24 h	0,32	332	174	12	28	2,5
48 h	0,48	407	185	13	16	3,45
72 h	0,35	300	180	17	8	4,4
96 h	0,30	300	166	6	5,3	3,7
5 j	0,24	332	-	2,5	5,3	3,45
6 j	0,32	425	195	13	13,4	3,2
7 j	-	567	195	13	9,3	2,2
8 j	0,29	700	215	17	2,7	-
9 j	0,29	425	215	10	5,3	2,6
10 j	0,27	567	210	10	13,4	8,6
11 j	0,36	280	200	6	2,7	3,9
12 j	0,29	375	215	6	5,3	3,7
13 j	0,32	525	223	2,5	5,3	4,3
14 j	0,32	425	215	2,5	10,7	1,65
15 j	0,27	487	220	-	8	4

TABLEAU XVIII - Variations des constantes sanguines en fonction du temps (cheval n° 2)

* Injection de phénylbutazone

W = Wroblewski

RF = Reitman-Frankel

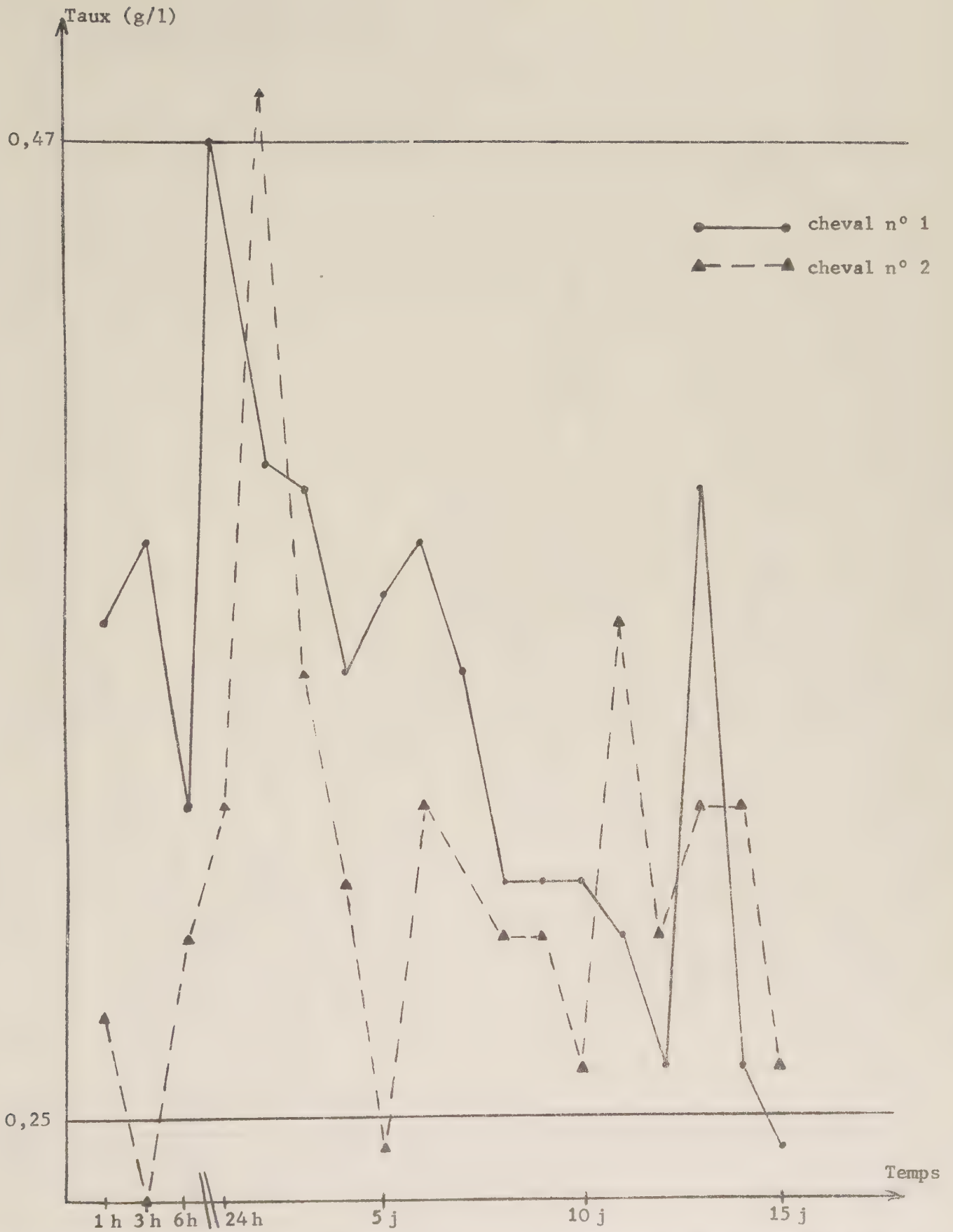


FIGURE 9 - Evolution du taux plasmatique d'urée en fonction du temps après des injections intramusculaires répétées de phénylbutazone.

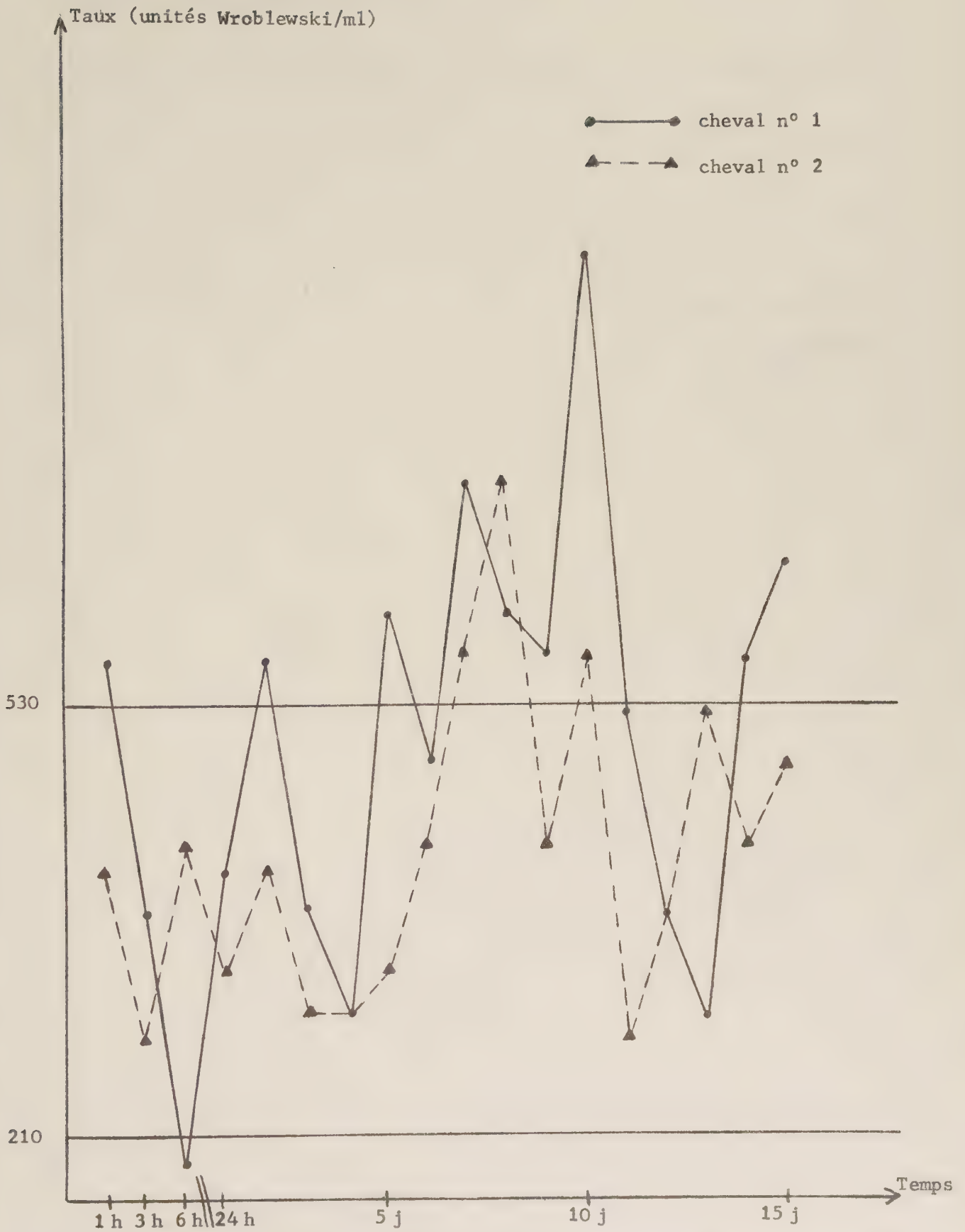


FIGURE 10 - Evolution du taux plasmatique des lactodéshydrogénases en fonction du temps après des injections intramusculaires répétées de phénylbutazone.

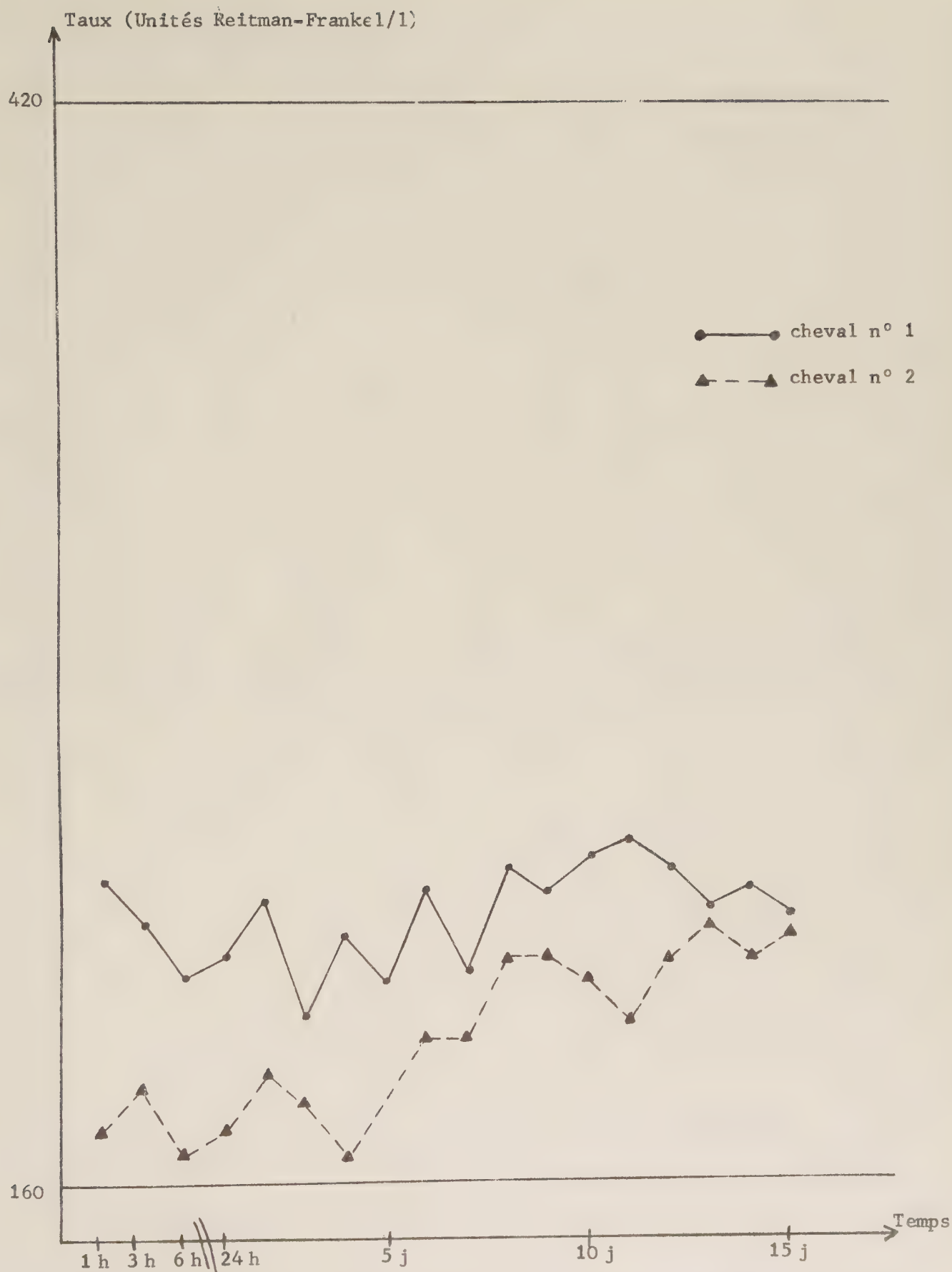


FIGURE 11 - Evolution du taux plasmatique de transaminase glutamique oxalacétique sérique (SGOT) en fonction du temps après des injections intramusculaires répétées de phénylbutazone.

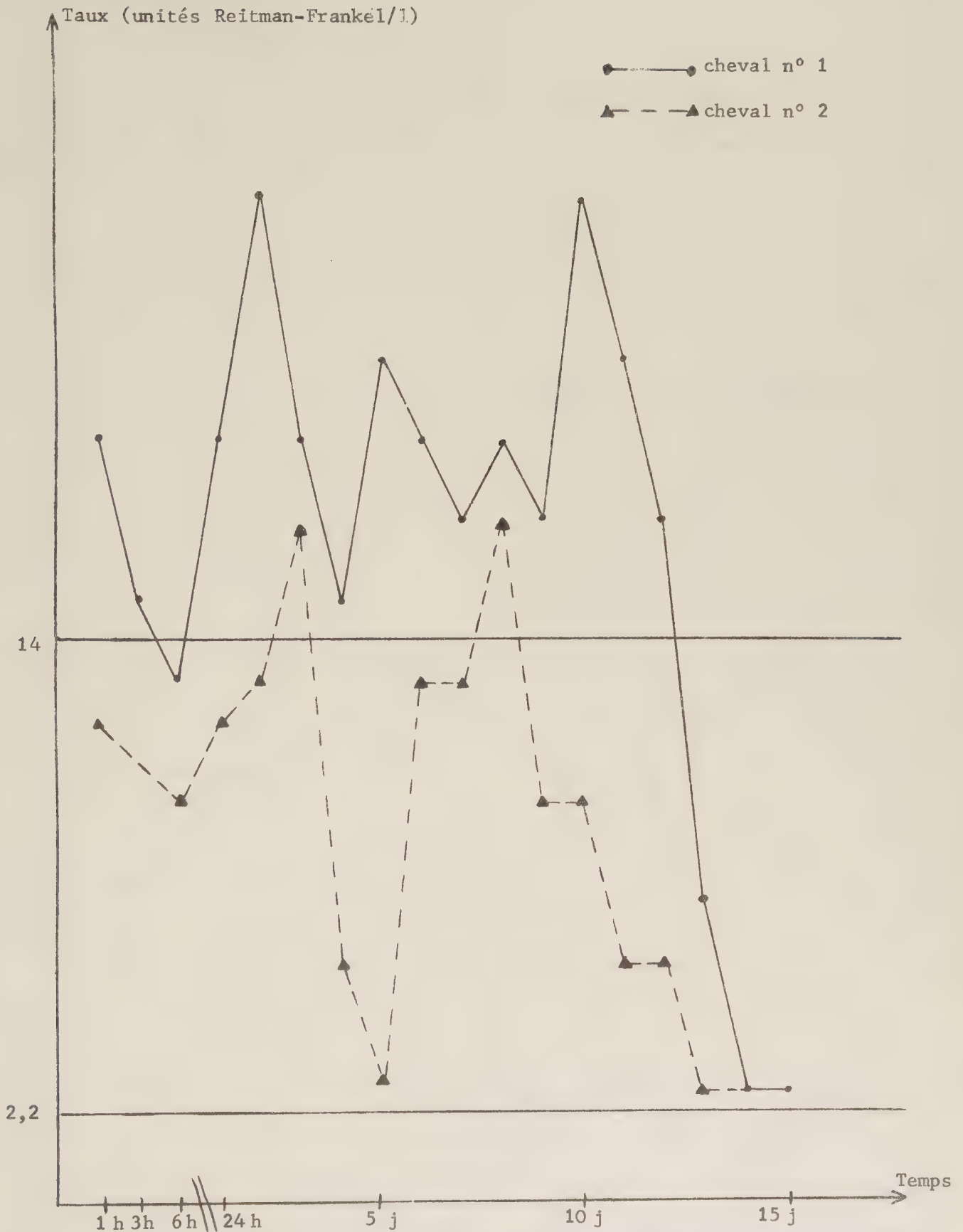


FIGURE 12 - Evolution du taux plasmatique de transaminase glutamique pyruvique sérique (SGPT) en fonction du temps après des injections intramusculaires répétées de phénylbutazone.

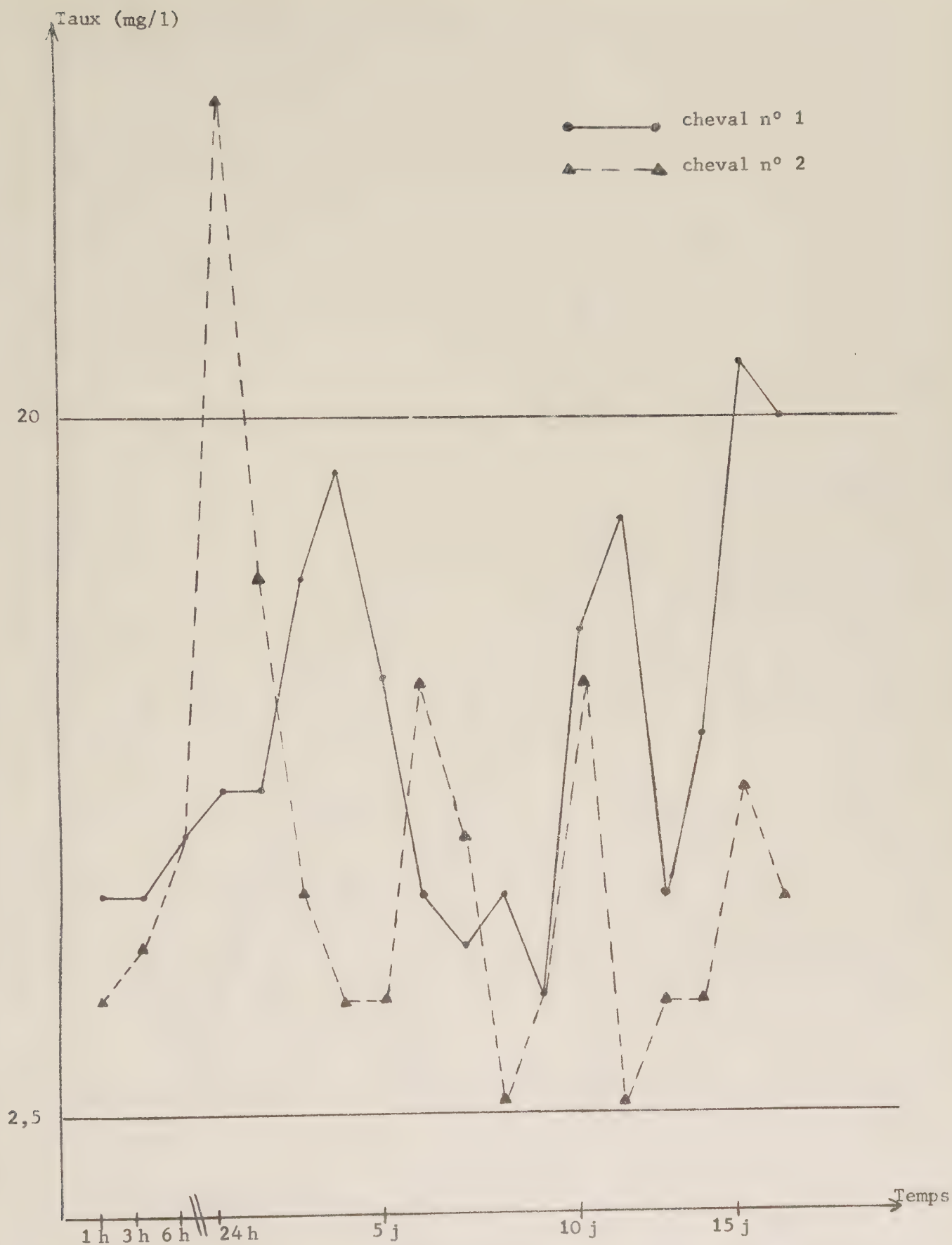


FIGURE 13 - Evolution du taux plasmatique de bilirubine libre en fonction du temps après des injections intramusculaires répétées de phénylbutazone.

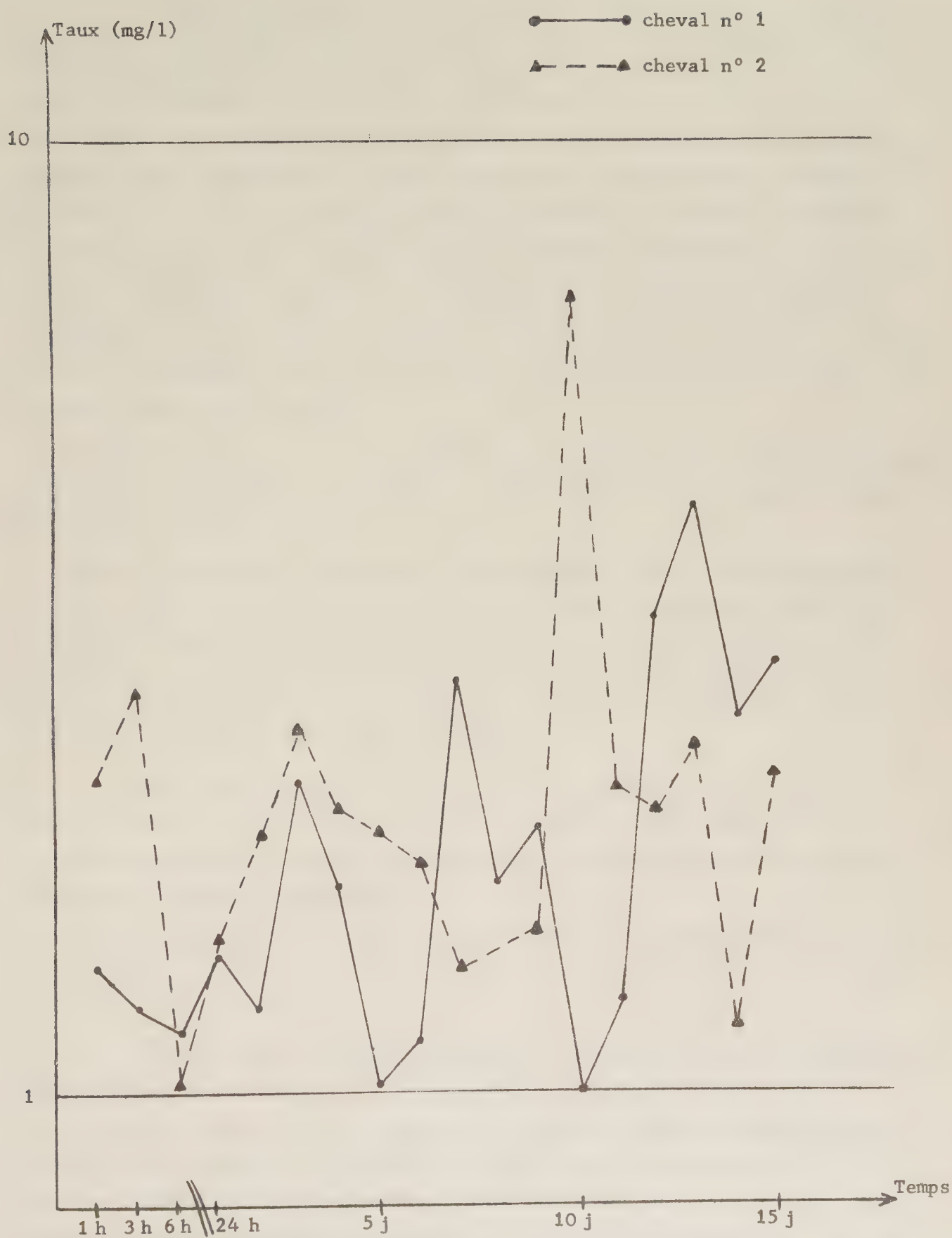


FIGURE 14 - Evolution du taux plasmatique de bilirubine conjuguée en fonction du temps après des injections intramusculaires répétées de phénylbutazone.

L'étude portant sur une administration répétée, suivant la posologie utilisée en thérapeutique équine, montre que la phénylbutazone présente un maximum de concentration plasmatique après la première et la deuxième injection. La poursuite du traitement permet d'obtenir une concentration se maintenant à un palier tout à fait détectable par l'analyse. Celui-ci diminue après la fin du traitement pour disparaître 2 à 3 jours après. Nous confirmons ainsi l'opinion de DI SANTO (31) : si l'on maintient une dose élevée, les récepteurs protéiques sont saturés et le taux de métabolisation est augmenté, entraînant un plateau stable. BURNS (18) le constate également chez l'Homme : les taux plasmatiques ne sont pas proportionnels aux doses administrées. Théoriquement, l'excédent de phénylbutazone serait éliminé rapidement. On devrait donc en retrouver une quantité plus importante dans l'urine. Ce qui n'est pas confirmé par nos résultats. Deux hypothèses sont alors possibles :

- la phénylbutazone en excès est métabolisée rapidement sous forme de substances qu'il serait intéressant de rechercher et d'identifier dans une étude ultérieure (métabolites connus ou autres),

- BAKKE (5) retrouve le médicament inchangé dans la bile. L'excédent pourrait donc être éliminé par cette voie et se retrouver dans les matières fécales, ce qui reste à démontrer en le recherchant dans les fèces. Une autre possibilité envisageable est la formation d'un cycle entérohépatique avec réabsorption de la phénylbutazone, sa métabolisation rapide et son élimination par l'urine. Cette hypothèse nous ramène à la première solution.

D'un point de vue pratique, si l'on doit traiter un cheval avec la phénylbutazone, il apparaît inutile d'utiliser des doses très importantes car :

- l'existence du plateau observé en cas d'administration répétée à forte dose indique que l'excédent est éliminé,

- on note l'apparition de lésions graves : ulcères, troubles rénaux, nécrose de la veine porte.

Il nous faut maintenant reconsidérer le problème de l'utilisation de la phénylbutazone du point de vue frauduleux :

- le dopage : MOSS (63) nous rappelle qu'il existe 3 types de dopage en ce qui concerne les chevaux de sport. Ce sont la stimulation, la dépression et le rétablissement des performances normales du cheval. La 3ème catégorie qui nous intéresse plus spécialement tombe sous le coup de l'article 69 du Code des Courses.

Il suffit alors pour les commissaires s'assurant du contrôle, d'effectuer une prise d'urine dans les heures qui suivent la compétition (les prises de sang ne se font pas en pratique courante en France). Si l'animal a été dopé, aucune difficulté ne s'élèvera pour constater la fraude.

- la vente d'un cheval boiteux par un propriétaire peu scrupuleux. BRION (14), dans son "Précis de Législation Vétérinaire", à propos de la vente des animaux, nous rappelle qu'il existe plusieurs modalités de vente. Il semble, à notre avis, que la "vente à l'essai" présente le maximum de sécurité pour l'acheteur. En effet celui-ci a 8 jours pour restituer l'animal s'il se rend compte qu'une manoeuvre frauduleuse a été exercée pour masquer une tare quelconque. Il peut faire pratiquer une prise de sang ou d'urine pour une recherche de phénylbutazone, le jour de l'acquisition de l'animal. Si le dosage se révèle positif, l'acheteur peut refuser le cheval en accusant le vendeur de "dol". Si le dosage se révèle négatif bien que l'animal ait été traité à la phénylbutazone, dans le délai de 8 jours celui-ci se remettra à boiter, l'action palliative de la phénylbutazone ne s'exerçant plus. L'animal pourra être rendu au vendeur de la même façon.

Ce dernier étant convaincu de mauvaise foi, la vente est annulée pour "dol" et, en vertu de l'article 1645 du Code Civil, il est tenu de verser des dommages et intérêts à l'acheteur sans parler du remboursement du prix de vente et de tous les frais occasionnés par celle-ci (intérêts de la somme calculés depuis le jour où la demande en justice a été faite, coûts du contrat, frais engagés par l'acheteur pour faire valoir ses droits, frais d'entretien et de conservation).

Un dernier problème a été soulevé dans notre travail : celui de savoir si, à dose thérapeutique, la phénylbutazone a une action néfaste sur les principaux organes de l'animal. Si l'on a pu remarquer des variations des taux des différents paramètres mesurés, ceux-ci restent cependant dans les valeurs normales admises sauf, en ce qui concerne un des deux chevaux, l'augmentation passagère du taux de LDH et l'augmentation constante de la SGPT. Malgré l'élévation de ces taux, il semble difficile de conclure à une atteinte hépatique, notre expérimentation n'ayant porté que sur deux animaux. En considérant la littérature, il semblerait que ces modifications ne puissent pas être imputées à une action quelconque de la phénylbutazone, les doses utilisées de plus n'étant pas toxiques. Le problème reste cependant entier et nécessite une étude plus approfondie, au niveau du dosage des constantes sanguines, du comportement de l'animal traité et de l'étude anatomopathologique.

CONCLUSIONS

Notre objectif, dans ce travail, a été l'étude du devenir de la phénylbutazone dans l'organisme d'un cheval et ce dans le cadre du dopage ou de la vente des chevaux.

La méthode analytique proposée par chromatographie en phase gazeuse permet de déceler des concentrations de 0,1 à 0,2 ppm à partir de 10 ml de plasma ou d'urine. Appliquée à une étude concrète chez le cheval, cette méthode permet de détecter la phénylbutazone pendant 72 heures soit après une injection intramusculaire unique à dose thérapeutique soit après la fin d'une série d'administrations appliquée selon la posologie utilisée en thérapeutique équine, suivant la voie parentérale ou orale. La voie locale utilisée sous forme d'application de pommade, voie la moins utilisée car la moins efficace, ne permet d'effectuer qu'une recherche qualitative de la phénylbutazone, les doses retrouvées dans le plasma étant très faibles. Pour réaliser un dosage très précis de la substance dans ce cas, une grande précision dans les manipulations est nécessaire, peu en accord avec une recherche de routine.

Considérant enfin le point de vue frauduleux, il nous paraît indiqué que, soit lors d'une compétition soit lors de l'achat d'un cheval, les commissaires ou l'acheteur fassent pratiquer une prise de sang ou d'urine, en vue d'analyse le plus tôt possible, au plus tard dans la journée afin d'appréhender au mieux le passé "thérapeutique" de l'animal.

Vu :

LE DIRECTEUR

de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon,

Vu :

LE DOYEN,

LE PROFESSEUR RESPONSABLE

de l'École Nationale Vétérinaire,

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

Vu et permis d'imprimer

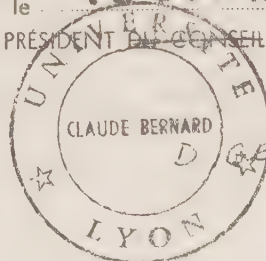
LYON, le

19 OCT. 1977

19

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ

LYON I



B I B L I O G R A P H I E

1. ALEXANDER (F.). 1972. Vet. Rec., 90, (6), 161-162.
2. Anonyme. 1971. Vet. Rec., 89, 537-538.
3. ARNOLD (L.) et coll. 1974. Pathology, 6, 303-313.
4. ARNOLD (L.) et coll. 1976. Pathology, 8, (2), 135-141.
5. BAKKE (O.M.) et coll. 1974. Xenobiotica, 4, (4), 237-254.
6. BARRAGUY (T.B.). 1973. Irish Vet. J., 27, (1), 7-11.
7. BARROY (J.P.) et coll. 1970. Acta Gastroent. Belg., 33, 469-481.
8. BERSHOF (E.) et coll. 1953. J.A.M.A., 151, 557.
9. BLUESTONE (R.) et coll. 1969. Brit. Med. J., 4, 590-593.
10. BOGAN (J.A.). 1972. Vet. Rec., 90, 199.
11. BONFILS (S.) et coll. 1955. Bull. Soc. Méd. Hop. Paris, 71, 114-123.
12. BOULOS (B.M.) et coll. 1971. Arch. Internat. Pharmacodyn. Ther., 194, (2), 403-414.
13. BRIAN (L.R.) et coll. 1976. Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol., 15, (2), 257-265.
14. BRION (A.). 1970. 4ème édition, Vigot Frères, Paris.
15. BRODIE (B.B.). 1964. Absorption and distribution of drugs. Livingstone, Edinburgh.
16. BRUCK (E.) et coll. 1954. Lancet, 1, 225-228.
17. BRUNE (K.) et coll. 1976. Agents Actions, 6, (1-3), 159-164.

18. BURNS (J.J.) et coll. 1953. J. Pharmacol. Exp. Ther., 109, 346-357.
19. BURNS (J.J.) et coll. 1958. Nature, 182, 1162-1163.
20. BURNS (J.J.) et coll. 1960. Ann. N.Y. Acad. Sci., 86, 253-262.
21. BURNS (J.J.). 1968. Ann. N.Y. Acad. Sci., 151, 959-967.
22. BYRON (G.M.) et coll. 1953. New York State J. Med., 53, 676.
23. CAMPBELL (E.F.). 1953. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 84, 481-483.
24. CHARET (R.) et coll. 1953. J.A.M.A., 151, 556.
25. CHIGNELL (C.F.) et coll. 1971. Pharmacology, 5, 235-244.
26. COLLIER (H.O.). 1971. Nature, 232, 17-19.
27. CRUNKHORN (P.) et coll. 1971. Brit. J. Pharmacol., (41), 49-56.
28. CURRIE (J.P.). 1952. Lancet, 2, 15.
29. DAVIES (H.R.) et coll. 1952. Brit. Med. J., 2, 1392.
30. DAYTON (P.G.) et coll. 1967. J. Pharm. Exp. Ther., 158, 305-316.
31. DI SANTO (A.R.) et coll. 1976. J. Am. Pharm. Assoc., NS 16, (6), 365-368.
32. DOMENJOZ (R.). 1960. Ann. N.Y. Acad. Sci., 86, (1), 263-291.
33. DONIKE (M.). 1976. Brit. J. Sports Med., 10, (3), 147-154.
34. DUNN (P.S.). 1972. Equine Vet. J., 4, (2), 63-65.
35. ETESS (A.D.) et coll. 1953. J.A.M.A., 151, 639.
36. FINOCCHIO (E.J.) et coll. 1970. J.A.V.M.A., 156, (4), 454-456.
37. GABRIEL (K.L.) et coll. 1962. J.A.V.M.A., 140, 337-341.
38. GANDAL (C.P.) et coll. 1969. Cornell Veterinarian, 599, 577-580.
39. GRANIRER (L.W.). 1952. J.A.M.A., 150, 1332.
40. HART (F.D.) et coll. 1959. Brit. Med. J., 1, 1087-1089.
41. HASEGAWA (M.) et coll. 1976. Japan. Kokai, 25, 194.
42. HECK (F.J.). 1953. Postgrad. Med., 13, 185.
43. HEMMING (A.). 1953. Antibiot. Chemother., 3, 634-644.
44. HERMANN (B.). 1960. Med. Exp., 1, 170.
45. HINZ (C.) et coll. 1953. J.A.M.A., 151, 38.
46. HOPES (R.). 1972. Equine Vet. J., 4, (2), 66-68.
47. HORTON (E.W.). 1963. Nature, 200, 892-893.

48. IGNARRO (L.J.). 1972. J. Pharmacol. Exp. Ther., 182, 179-188.
49. JÄHNCHEN (E.) et coll. 1972. Clin. Chem., 18, 984-986.
50. JÄHNCHEN (E.) et coll. 1972. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 141, (3), 963-965.
51. JOLLOW (D.J.) et coll. 1972. Pharmacology, 8, (1-3), 21-32.
52. JOSHUA (J.). 1956. Vet. Rec., 68, 60.
53. JUN (H.W.) et coll. 1972. J. Pharm. Sci., 61, (11), 1835-1837.
54. KALEY (G.) et coll. 1971. Ann. N.Y. Acad. Sci., 180, 338-350.
55. KAMPMANN (E.) et coll. 1966. Nature, 209, 519.
56. KUZELL (W.C.) et coll. 1952. California Med., 77, 319.
57. KUZELL (W.C.) et coll. 1952. J.A.M.A., 149, 729.
58. KUZELL (W.C.) et coll. 1952. Bull. Rheum. Dis., 3, 23.
59. Mc GILVERAY (I.J.) et coll. 1974. J. Chromatogr., 89, (1), 17-22.
60. MAX (M.) et coll. 1970. Gastroenterology, 58, 329-336.
61. MENGUY (R.) et coll. 1967. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 125, 1108-1111.
62. MERCK Index. 1976. 9ème édition.
63. MOSS (M.S.). 1972. Equine Vet. J., 4, 69-73.
64. OGRYZLO (M.A.) et coll. 1957. Ann. Rheum. Dis., 16, 425-437.
65. PAULUS (H.E.) et coll. 1973. Ann. Rev. Pharmacol., 13, 107-125.
66. PLATT (D.) et coll. 1972. Klin. Wochenschr., 50, (18), 875-881.
67. POLLOCK (S.H.) et coll. 1971. J. Pharmacol. Exp. Ther., 178, 609-615.
68. POUND (N.J.) et coll. 1974. J. Chromatogr., 89, (1), 23-30.
69. QUIN (B.). 1967. Ann. Rheum. Dis., 16, 256-257.
70. Report of the Veterinary-chemist Advisory Committee to the National Association of State Racing Commissioners. 1977. The Blood Horse, 4 Avril, 1530-1537.
71. RITSCHER (W.A.). 1972. Perspect. Clin. Pharm., 286-324.
72. ROBERTS (B.L.) et coll. 1976. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 15, (2), 257-265.
73. RUDMAN (D.) et coll. 1971. J. Pharmacol. Exp. Ther., 176, 261-272.
74. SABIN (K.). 1974. Biomed. Mass. Spectrom., 1, (4), 252-255.
75. SIGUIER (F.). 1953. Sem. Hôp. Paris., 29, 3659-3667.

76. SMITH (C.H.) et coll. 1952. J. M. Soc. New Jersey, 49, 306.
77. SPERLING (I.L.). 1959. Arth. and Rheum., 2, 203-211.
78. STEPHENS (C.A.L.) et coll. 1952. J.A.M.A., 150, 1084.
79. STEVENSON (A.C.) et coll. 1971. Ann. Rheum. Dis., 30, 487.
80. STEVENSON (A.C.) et coll. 1972. Equine Vet. J., 4, 214-216.
81. STIFEL (J.L.) et coll. 1953. J.A.M.A., 151, 555.
82. SUTTER (M.D.). 1958. Vet. Med., 53, 83-85.
83. TANIMURA (Y.) et coll. 1975. Chem. Pharm. Bull. 23, (3), 651-658.
84. TOMLINSON (R.V.) et coll. 1972. Biochem. Biophys. Res. Comm., 46, (2), 552-559.
85. VAUGHN (P.P.) et coll. 1959. Arth. and Rheum., 2, 212-223.
86. VESELL (E.S.) et coll. 1968 a. Science (N.Y.), 159, 1479-1480.
87. VON BAHR (G.) et coll. 1970. Europ. J. Pharmacol., 9, 99-105.
88. VON EULER (U.S.). 1936. J. Physiol., 88, 213-233.
89. WALLACE (G.E.). 1968. J. Pharm. Sci., 57, 2053.
90. WATSON (J.R.). 1973. J. Chromatogr., 76, 141-147.
91. WERBLOW (S.G.) et coll. 1953. J.A.M.A., 151, 1286.
92. WILHEIMI (G.). 1965. Jap. J. Pharmacol., 15, 187-198.
93. WILHEIMI (G.). 1974. Pharmacology, 11, (4), 220-230.
94. WILSON (G.M.) et coll. 1956. Amer. J. Med., 21, 232.
95. YÜ (T.F.) et coll. 1958. J. Pharmacol. Exp. Ther., 123, 63-69.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE - LA PHENYLBUTAZONE : ETUDE GENERALE.....	2
I - Propriétés physiques.....	3
II - Propriétés pharmacologiques.....	4
II-1. Administration.....	4
II-2. Absorption.....	4
II-2-1. Voie orale.....	4
II-2-2. Voie intramusculaire.....	4
II-2-3. Voie transcutanée.....	6
II-3. Transport dans le sang.....	6
II-4. Transformations chimiques dans l'organisme.....	8
II-4-1. Généralités.....	8
II-4-2. Métabolites.....	9
a) Oxyphenbutazone.....	11
b) Hydroxyphénylbutazone.....	15
c) Para- δ -dihydroxyphénylbutazone.....	15
II-5. Elimination.....	15
III - Mode d'action.....	16
III-1. Phénylbutazone.....	16
III-2. Oxyphenbutazone.....	17
III-3. Hydroxyphénylbutazone.....	17
IV - Toxicité.....	19

V - Effets secondaires.....	23
V-1. Action sur le foie.....	23
V-2. Action sur le rein.....	24
V-3. Action sur les chromosomes.....	24
VI - Usage thérapeutique.....	24
VII - Utilisation de la phénylbutazone en vue du dopage des chevaux...	26
DEUXIEME PARTIE - ETUDE PHARMACOCINETIQUE.....	28
I - Etude analytique de la phénylbutazone.....	29
I-1. Extraction.....	30
I-2. Identification et dosage.....	32
I-2-1. Analyse qualitative.....	32
I-2-2. Analyse quantitative.....	32
II - Etude pharmacocinétique chez le cheval.....	34
II-1. Protocole expérimental.....	34
II-1-1. Animaux.....	34
II-1-2. Doses et modes d'administration.....	34
II-1-3. Prélèvements.....	36
a) Expérience A : administration unique..	36
b) Expérience B : administration répétée.	36
c) Etude des constantes sanguines.....	37
II-1-4. Préparation des prélèvements.....	37
a) Expériences A et B.....	37
b) Dosage des constantes sanguines.....	37
- Urée.....	37
- LDH.....	37
- Transaminases SGOT et SGPT.....	38
- Bilirubines libre et conjuguée..	38
II-1-5. Dosage de la phénylbutazone dans les échantillons.....	39
II-2. Résultats.....	39
II-2-1. Expérience A.....	39
II-2-2. Expérience B.....	39
II-2-3. Action sur les constantes sanguines.....	46
II-3. Discussion.....	46
CONCLUSIONS.....	57
BIBLIOGRAPHIE.....	58

